

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



**TESIS DOCTORAL**

**Influencia del medio ambiente neonatal sobre la respuesta  
endocrina y comportamental de la rata**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR

**Isabel González Fraile**

**Madrid, 2015**



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE



5310035255

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

INFLUENCIA DEL MEDIO AMBIENTE NEONATAL

SOBRE LA RESPUESTA ENDOCRINA Y COMPORTAMENTAL DE LA RATA

*1984*  
*Isabel González Fraile*

Isabel González Fraile

Madrid 1984



I. González Fraile

R.27.326

A mis padres

Esta Tesis Doctoral ha sido realizada en el Departamento de Fisiología Animal de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Complutense de Madrid, bajo la dirección del Dr. D. Rafael Hernández Tristán.



Deseo expresar mi más sincero agradecimiento al Dr. D. Rafael Hernández por haber iniciado y orientado mi formación en el estudio del comportamiento, por su acertada crítica y consejos y por su amistad.

Asimismo, agradezco al Prof. D. Arsenio Fraile su acogida en el laboratorio, la confianza que siempre ha depositado en mi trabajo y su aceptación para ser ponente de esta Tesis.

Deseo igualmente expresar mi gratitud, por su colaboración directa o indirecta en la elaboración de esta Tesis, a las siguientes personas:

A mi marido, el Dr. José Fco. García, por todo el estímulo, apoyo y colaboración que de él he recibido a lo largo de las muchas horas que ha dedicado a mi trabajo.

A mis amigas y compañeras M<sup>a</sup> José Aparicio, Paz Viveros y M<sup>a</sup> Paz Nava porque siempre estuvieron dispuestas a echarme una mano cuando más lo necesité.

Quiero hacer una mención especial a la ayuda prestada por la Dra. Pilar González y su colaboradora Dña. Isabel Martínez, sin cuya inestimable cooperación no se hubieran podido hacer las determinaciones de corticosterona.

A la Dra. Araceli Gallego, por su asesoramiento y supervisión en el análisis estadístico de nuestros resultados.

A Isabel Rodríguez por su generosa colaboración al ayudarme a mecanografiar el manuscrito.

## INDICE

Página

### I. INTRODUCCION

I.1.- Fisiología del estrés .....	2
I.2.- Respuesta hormonal al estrés .....	3
I.2.1.- Respuesta del eje Hipotálamo-Adenohipófisis- -Corteza Adrenal (H-A-CA) .....	4
I.2.2.- Otros sistemas y estructuras implicadas en la respuesta al estrés .....	11
I.3.- Estimulación neonatal .....	14
I.3.1.- Estimulación neonatal y respuesta del eje H-A-CA al estrés .....	16
I.3.2.- Estimulación neonatal y respuestas de otros sistemas neuroendocrinos al estrés .....	21
I.3.3.- Efectos comportamentales de la estimulación neonatal .....	23
I.4.- Respuesta emotiva al estrés: Actividad motora y exploratoria .....	23
I.4.1.- Estimulación neonatal y respuesta emotiva al estrés .....	25
I.4.2.- Elección del procedimiento .....	27
I.4.2.1.- Prueba de actímetro .....	28
I.4.2.2.- Prueba de campo abierto .....	29
I.5.- Conducta agresiva .....	32
I.5.1.- Agresión en la naturaleza .....	32
I.5.2.- Consideraciones etológicas sobre la agresión intraespecífica .....	33
I.5.3.- La agresión intraespecífica en la rata .....	33

I.5.4.- Mecanismos neuroendocrinos y agresión intraespecífica .....	35
I.5.5.- La agresión interespecífica en la rata. Conducta muricida .....	37
I.5.6.- Mecanismos neuroendocrinos y agresión interespecífica .....	37
I.5.7.- Manipulación neonatal y conducta agresiva ..	39
I.5.8.- Elección del procedimiento .....	43
I.5.8.1.- Agresión intraespecífica .....	44
I.5.8.2.- Agresión interespecífica .....	45
I.6.- Conducta sexual .....	46
I.6.1.- La conducta sexual en ratas .....	46
I.6.2.- Mecanismos neuroendocrinos y conducta sexual.	48
I.6.3.- Manipulación neonatal y comportamiento sexual en ratas .....	51
I.6.4.- Elección del procedimiento .....	57
I.6.4.1.- Prueba de conducta sexual .....	58
I.7.- Procesos de aprendizaje .....	60
I.7.1.- Definiciones y conceptos básicos .....	60
I.7.2.- Tipos de aprendizaje .....	64
I.7.2.1.- Condicionamiento instrumental .....	64
I.7.2.2.- Aprendizaje de discriminación .....	66
I.7.3.- Mecanismos neuroendocrinos y aprendizaje ...	69
I.7.4.- Manipulación neonatal y aprendizaje .....	73
I.7.5.- Elección del procedimiento .....	76
I.7.5.1.- Prueba de condicionamiento aversivo ...	77
I.7.5.2.- Prueba de discriminación espacial .....	77
I.8.- Objetivos del presente trabajo. Resumen .....	79

## II. MATERIAL Y METODOS

II.1.- Animales .....	82
II.2.- Condiciones de trabajo .....	85
II.3.- Aparatos .....	86
II.3.1.- Actímetro .....	86
II.3.2.- Campo abierto .....	86
II.3.3.- Jaula de lucha .....	87
II.3.4.- Jaula de prueba muricida .....	87
II.3.5.- Recinto experimental para prueba de sexualidad .....	87
II.3.6.- Laberinto en Y .....	88
II.3.7.- Caja de Mowrer-Miller .....	89
II.4.- Técnicas experimentales .....	89
II.4.1.- Tratamientos neonatales .....	89
II.4.1.1.- Grupo experimental RSC .....	89
II.4.1.2.- Grupo experimental SSC .....	92
II.4.1.3.- Grupo experimental SC .....	93
II.4.1.4.- Grupo control .....	93
II.4.1.5.- Grupo control de peso neonatal .....	94
II.4.2.- Control de peso .....	94
II.4.2.1.- Etapa neonatal .....	94
II.4.2.2.- Etapa posterior al destete .....	95
II.4.3.- Actímetro .....	95
II.4.4.- Actividad en campo abierto .....	97
II.4.5.- Agresión intraespecífica inducida por choque eléctrico .....	98
II.4.6.- Agresión interespecífica: prueba muricida ..	102
II.4.7.- Prueba de conducta sexual .....	102
II.4.8.- Aprendizaje de discriminación espacial en	

II.4.8.- Aprendizaje de discriminación espacial en laberinto .....	107
II.4.9.- Aprendizaje de evitación activa en caja de Mowrer-Miller .....	109
II.4.10.- Adrenalectomía bilateral .....	111
II.4.11.- Recogida de muestras y valoración de la corticosteronemia por radioinmunoanálisis (RIA) .....	112
II.5.- Técnicas estadísticas .....	116

### III. RESULTADOS Y DISCUSION

III.1.- Valoración hormonal de corticosterona .....	121
III.2.- Prueba de actímetro .....	132
III.3.- Prueba de campo abierto .....	144
III.4.- Prueba de agresión intraespecífica .....	157
III.5.- Prueba de agresión interespecífica .....	168
III.6.- Prueba de conducta sexual .....	170
III.7.- Prueba de aprendizaje discriminativo en laberinto con refuerzo alimenticio .....	194
III.8.- Prueba de aprendizaje de evitación activa en caja de Mowrer-Miller .....	228
III.9.- Pesos de las glándulas adrenales .....	259
III.10.- Peso corporal .....	259

IV. CONCLUSIONES .....	269
------------------------	-----

V. BIBLIOGRAFIA .....	272
-----------------------	-----

## I. I N T R O D U C C I O N

## I. 1.- FISILOGIA DEL ESTRES.

Desde hace ya varias décadas, tanto los estudios de comportamiento animal como los de neuroquímica entre otros, han dirigido una gran parte de sus esfuerzos al esclarecimiento de las bases biológicas que subyacen en los estados de estrés, con la intención de proporcionar un marco teórico general que permita comprender las respuestas de adaptación de los vertebrados frente a una amplia gama de presiones ambientales.

Según la definición más general podemos entender por situación de estrés " aquella que aparece en los animales expuestos a estímulos real o potencialmente nocivos " (29). Para reaccionar frente a una situación de este tipo, la mayoría de los vertebrados superiores poseen un mecanismo general de defensa capaz de ser activado automáticamente para movilizar sus recursos frente a cualquier tipo de amenaza. En los mecanismos de respuesta al estrés están implicados el sistema nervioso y el sistema endocrino.

La forma en que estos sistemas responden a los estímulos inductores de estrés ha sido estudiada por muchos fisiólogos y endocrinólogos, entre los que destaca, desde un punto de vista histórico, W. B. Cannon, que centró su estudio en la descripción de la respuesta inmediata del organismo a tales estímulos, definiendo la llamada Reacción de Emergencia, que obedece a la conjunción del sistema nervioso simpático y la médula adrenal. Su finalidad principal es la movilización urgente de los recursos del organismo a fin de dar la respuesta más conveniente para el animal ante una situación de emergencia.

Para las respuestas al estrés prolongado, ( que tienen lugar a largo plazo ), el centro responsable pasa de la médula a la corteza adrenal y a la adenohipófisis, que es inductora de su activación.

Los primeros trabajos realizados en este terreno se deben a Hans Selye (242), él fue el primero en definir el Síndrome General de Adaptación ( S.G.A. ) según el cual "el cuerpo de un mamífero moviliza, como respuesta al estrés, un sistema de reacciones defensivas que implica a las glándulas hipofisaria y adrenal".

El S.G.A. incluye tres aspectos muy concretos:

- 1.- Reacción de Alarma : es una reacción inmediata.
- 2.- Fase de Resistencia : es un período de tiempo más o menos largo durante el cual se realizan los ajustes oportunos del organismo para adaptarse a un estrés prolongado.
- 3.- Estado de Exhaustividad : es la última etapa, durante la cual, si el estrés continúa, se produce la muerte del organismo por agotamiento adrenal.

En la actualidad, las ideas de Selye están siendo revisadas y ampliadas, concretamente todo lo concerniente a la fase de exhaustividad que implica agotamiento adrenal (67). De esta manera, la sucesión en el tiempo de las diversas fases del S.G.A. así como su relación con la actividad adrenal ofrece, todavía hoy, muchas dudas que aún no han sido suficientemente aclaradas.

## I. 2.- RESPUESTA HORMONAL AL ESTRES.

Teniendo en cuenta lo expuesto anteriormente podemos decir que la respuesta hormonal al estrés se efectúa a dos niveles. El primero es una respuesta inmediata, ya definida por Cannon (118), que supone una reacción, puntual y muy rápida, del organismo ante una situación inductora de estrés. Esta reacción se traduce en la activación de la médula adrenal y la puesta en circulación de una cantidad suficiente de catecolaminas, cuya función principal es la movilización de recursos y la puesta en



situación de alerta de todas las funciones del organismo.

El segundo nivel de actuación del sistema hormonal, como respuesta a una situación de estrés, es el definido por Selye como mecanismo de respuesta a largo plazo. En esta respuesta el mecanismo endocrino varía y es ahora la corteza adrenal la protagonista.

Lo primero que cabe señalar es que no va a ser sólo la corteza adrenal la que con la liberación al torrente sanguíneo de glucocorticoides regule la respuesta endocrina al estrés a largo plazo. Sólo la actuación coordinada del sistema hipotálamo-adenohipófisis-corteza adrenal (H-A-CA), a través de un mecanismo perfecto y muy ajustado podrá llevar a cabo la respuesta correcta que suponga un mayor valor adaptativo para el individuo.

#### I. 2.1.- Respuesta del eje Hipotálamo-Adenohipófisis-Corteza Adrenal (H-A-CA).

En la figura 1 se representa de forma esquemática el sistema H-A-CA , con la regulación y acción de los glucocorticoides.

De una forma muy resumida podemos decir que como respuesta a un estrés se produce la liberación de la hormona o factor liberador de corticotropina (CRH o CRF) por parte del hipotálamo, el cual actúa sobre la adenohipófisis produciendo la liberación de la hormona adrenocorticotropa (ACTH) que a su vez actúa sobre la corteza adrenal desencadenando la emisión de hormonas corticoesteroides. Los glucocorticoides son considerados las hormonas más características en la respuesta al estrés. Merecen destacarse entre ellas la hidrocortisona por ser la más abundante en el mono, la oveja y también en el hombre y la corticosterona en la rata y el conejo. En otros organismos ambas hormonas se encuentran en proporciones semejantes como en la vaca, el hurón, el perro y el gato (29).

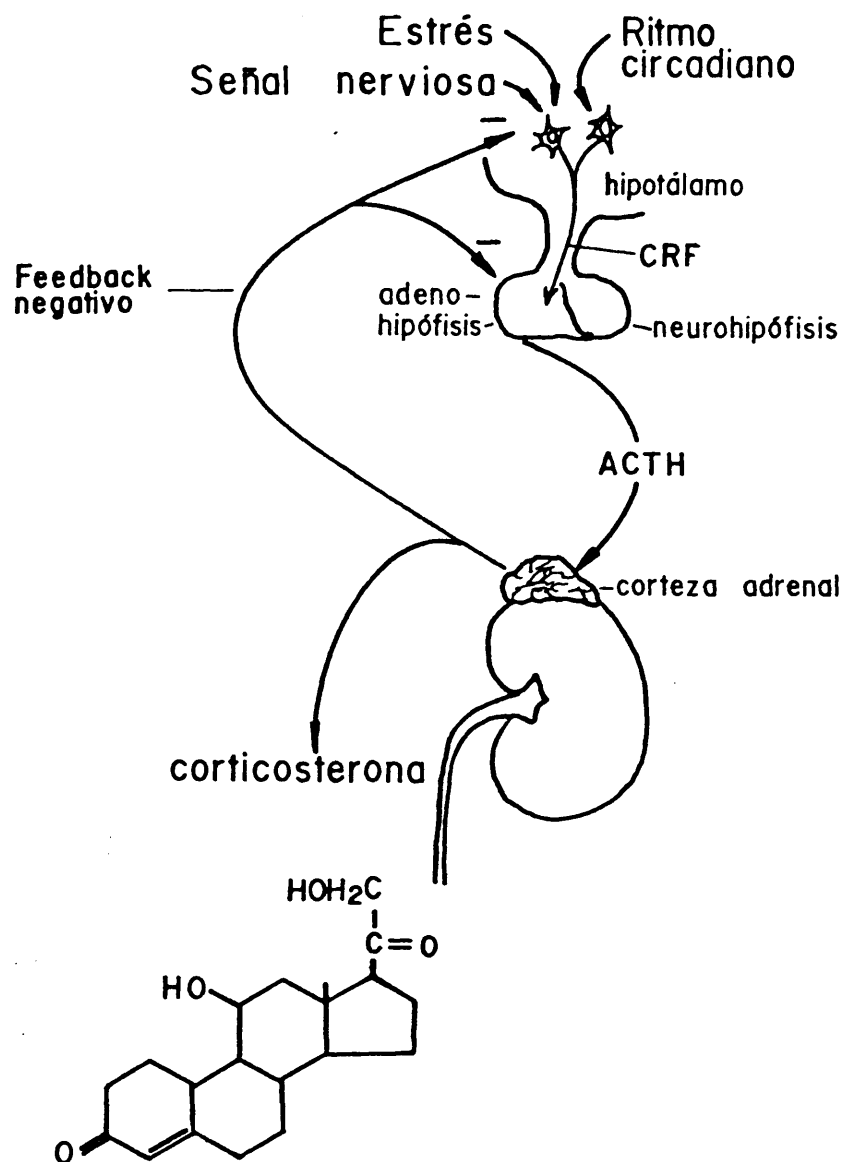


Figura 1.- Eje hipotálamo-adenohipófisis-corteza adrenal.

Sólo se ilustran las hormonas mencionadas en el presente trabajo (basado en la referencia 89).

CRF: Factor liberador de corticotropina.

ACTH: Hormona adrenocorticotropa (corticotropina).

Todo el proceso descrito está autorregulado por un mecanismo de retroalimentación negativo. El sistema H-A-CA en la rata no es plenamente activo si una de sus subunidades no sintetiza y secreta la hormona apropiada, si la hormona secretada no alcanza el tejido blanco en concentración suficiente o si el tejido blanco no responde a concentraciones apropiadas de hormona. Sólo cuando todas las partes del eje han madurado y están funcionalmente conectadas es posible una respuesta coordinada al estrés.

Recordando la definición de estrés, quizás convendría aclarar ahora, que no sólo pueden ser situaciones inductoras de estrés aquellas que implican un daño físico para el individuo ( quemaduras, fracturas, drogas, infecciones, frío, calor...) sino también aquellas otras sólo potencialmente nocivas, entre las que podemos citar el miedo, la ansiedad, el hacinamiento, el aislamiento o la presencia de un ambiente nuevo. Teniendo en cuenta esta consideración podemos afirmar que las hormonas del sistema H-A-CA pueden tener en los mamíferos otras funciones además de la movilización de recursos o el mantenimiento de la integridad tisular, en concreto, funciones tan importantes que afecten a la regulación del comportamiento, para obtener ventajas adaptativas frente a las exigencias ambientales.

En efecto, se ha podido comprobar que en los mamíferos dicho sistema, en sus tres niveles, es capaz de responder a una gran variedad de estímulos, entre los que podemos incluir, a nivel de liberación de glucocorticoides, la manipulación de los animales por parte del experimentador (269), la exposición a un medio ambiente nuevo ( 101, 129, 131) o la respuesta a determinados olores ( 97, 131), así como la exposición a estímulos auditivos(19, 98), luminosos (101), térmicos (45, 220 ) o nocivos como pueden ser ciertas pruebas de respuesta al calor,

inmovilidad o determinados shock eléctricos empleados en pruebas de condicionamiento (11,26,61,261). También se ha podido comprobar la respuesta del sistema ante estímulos sociales (101). La separación física entre madre y camada, por ejemplo, se ha visto que induce, en los mamíferos en general, una activación del eje adrenal (130).

A nivel de SNC se han encontrado varias regiones sensibles a corticosteroides, en concreto, en el área septal, hipocampo, amígdala, hipotálamo anterior, tálamo medio y formación reticular mesencefálica ( Bohus y col. y Endröczy y col. , citados en la ref. 287).

La corticosterona en la rata resulta capturada preferentemente por el hipocampo (192, 193, 194). Este hecho sugiere que esta estructura juega un papel en la mediación de los efectos comportamentales de los corticosteroides.

Es un hecho bien conocido que la formación hipocampal está íntimamente relacionada con el eje adrenal, tanto en la activación del sistema como en la captura de corticosterona. Los efectos de determinadas lesiones hipocampales sobre la respuesta de corticosterona a estímulos medio-ambientales parecen selectivos. De este modo, los resultados de Osborne y col. (212) sugieren que existen estímulos que influyen directamente sobre los niveles de corticosterona circulantes y que están mediados por circuitos neuronales que implican al hipocampo, pero que además existen otros estímulos que no siguen esta misma vía de activación.

Por otra parte, King y col. (149) han puesto de manifiesto que determinadas lesiones del hipotálamo ventromedial con inclusión de la eminencia mediana empeoran la respuesta del eje hipotalámico-adrenal al estrés.

Finalmente, podemos decir que numerosos trabajos apoyan la interpretación de de Wied (287,289,288) en el sentido de que la corticosterona puede ser el mediador fisiológico en las respuestas comportamentales adaptativas. Los efectos de la corticosterona sobre dicha conducta adaptativa pueden explicarse a través de la eliminación de las respuestas no-relevantes. En resumen, la corticosterona puede disminuir el estado de excitabilidad ("arousal") en las estructuras límbicas del cerebro.

Con respecto al papel de la ACTH en la respuesta del eje adrenal al estrés, parece que existen numerosas evidencias de que tanto ésta como algunos péptidos derivados pueden ejercer una acción directa sobre el cerebro, de forma que se vean modificados ciertos comportamientos adaptativos en las ratas adultas (208).

Murphy y Miller en 1955 fueron los primeros en demostrar un efecto comportamental de la ACTH en ratas. Estos autores demostraron que la administración de ACTH durante la adquisición de un condicionamiento de evitación ("shuttle-box") retrasaba la subsiguiente extinción (287).

Los efectos comportamentales de la ACTH y sus péptidos afines se han observado en pruebas de evitación activa ("shuttle-box"), evitación pasiva, conductas motivadas por hambre y en otras con motivación sexual (287, 289, 288).

de Wied (287) propone que tanto la ACTH como sus péptidos afines aumentan temporalmente el significado motivacional de los estímulos del medio ambiente. Esto aumenta la probabilidad de que se produzca una respuesta comportamental específica ante un estímulo concreto. El mecanismo por el cual esos neuropéptidos ejercen sus efectos comportamentales es a través de la facilitación de un estado de excitabilidad selectivo.

Estudios de implantación y de lesiones cerebrales han indicado que el centro de acción de la ACTH y sus péptidos afines y de los corticosteroides son las estructuras límbicas del cerebro.

Por todo lo expuesto anteriormente parece que la ACTH y sus péptidos derivados juegan un papel importante en los procesos motivacionales, mientras que los corticoides facilitan la eliminación de los estímulos no-relevantes. La comprobación de esta hipótesis confirmaría las interpretaciones de de Wied.

También cabe recordar aquí los trabajos realizados por Vale y col. (275) que han llegado a proponer al CRF como un péptido implicado en la respuesta comportamental del organismo al estrés, encontrando que el factor liberador de corticotropina es capaz de actuar en el cerebro, activando los sistemas simpáticos de modo similar a como ocurre con muchas formas de estrés y apoyan la hipótesis de que el sistema neural CRF puede mediar múltiples respuestas cerebrales al estrés, incluyendo respuestas comportamentales.

Por otra parte, todo el sistema se encuentra sometido a un ritmo biológico de actividad. La ritmicidad circadiana del sistema pituitario- adrenocortical es uno de los ciclos neuroendocrinos mejor establecidos. En la rata, este ritmo se encuentra ausente en el nacimiento y queda establecido alrededor de los 21-25 días de edad. A lo largo de este período de tiempo el cerebro de la rata casi ha finalizado el rápido desarrollo postnatal. Esto indica que la ontogenia del ritmo circadiano del eje hipotalámico-adrenal está asociado íntimamente con el desarrollo y maduración del sistema nervioso central (196). Se ha postulado que una alteración del medio hormonal en el período neonatal parece afectar a la maduración de los mecanismos del SNC implicados en la regulación del ritmo circadiano del

eje hipotálamo-adrenal (195).

Diferentes autores han estudiado el ritmo circadiano de corticosterona, y en términos generales podemos decir que encuentran una ritmicidad semejante para la corticosterona circulante en plasma y para la corticosterona adrenal (7), presentando unos niveles altos próximos al comienzo de la luz roja, en un fotoperiodo de luz-oscuridad controlado de 12:12 horas, mientras que los niveles de corticosterona son bajos próximos al comienzo de la luz blanca (7, 103). Encontrándose, en general, unos niveles altos unas tres horas antes y después de encenderse la luz roja, y otro pico, quizás menor, alrededor de la hora de encendido de la luz blanca (7, 49).

Por otra parte, otros autores (8) han descrito un ritmo circanual para la corticosterona, en el cual se pueden observar fluctuaciones dependientes de la estación, obteniéndose los valores más bajos en invierno.

Honna y col. (138) han descrito también un ritmo circadiano para el CRF. Este ritmo parece que se estabiliza también en la tercera semana de vida postnatal en la rata. Estos autores obtienen una diferencia sexual en los patrones circadianos de CRF y ellos no atribuyen esta diferencia al proceso de diferenciación sexual del cerebro que tiene lugar en la etapa crítica perinatal sino más bien a los cambios relativos a los patrones de secreción del ovario una vez alcanzada la pubertad. Es posible que el cortex adrenal actúe como un marcador para la iniciación del ciclo ovulatorio. Así, las semanas próximas a la pubertad son muy importantes para la interacción adrenal-gonadal. Además, parece que los corticosteroides adrenales interactúan con la función gonadal a nivel del hipotálamo (138, 167).

Por otra parte, diferentes autores han encontrado diferencias sexuales en el peso de las glándulas adrenales a partir

de la pubertad, siendo las adrenales de las ratas hembras las que aumentaban de peso a partir de ese momento, mientras que las de los machos se mantenían estables (56, 176).

De este modo, podemos observar como los ejes adrenal y gonadal se encuentran muy relacionados e incluso interconectados a nivel, sobre todo, de estructuras nerviosas superiores y tanto en la etapa adulta como en la fase perinatal, como comentaremos más adelante.

#### I. 2.2.- Otros sistemas y estructuras implicadas en la respuesta al estrés.

Muchos son los trabajos que se vienen realizando desde hace bastantes años intentando encontrar la relación entre distintos sistemas endocrinos y diferentes estructuras nerviosas y sus posibles implicaciones en la respuesta de un organismo ante una situación de estrés.

En este sentido Du Ruisseau y col. (234) y otros autores (144, 166) han encontrado que tanto el estrés agudo como el prolongado pueden modificar la secrección de diferentes hormonas como Prl (Prolactina), LH (Hormona Luteinizante), TSH (Hormona Estimulante del Tiroides), GH (Hormona de Crecimiento) y en un menor grado también la de FSH (Hormona Estimulante del Folículo).

Otro aspecto importante de los patrones de secrección de las diferentes hormonas adenohipofisarias durante el estrés, es el carácter no-específico de la respuesta. Con la excepción de la estimulación específica de la liberación de TSH por estrés de frío. De este modo se puede decir que los cambios hormonales inducidos por estrés no tienen relación con la naturaleza, sino más bien con la intensidad y duración del agente inductor de



estrés.

Otros trabajos se han dirigido hacia el esclarecimiento del papel de la médula adrenal en la respuesta al estrés a nivel periférico y la influencia de las vías adrenérgicas sobre determinadas regiones cerebrales. Aunque se conoce la influencia adrenérgica sobre la secreción de ACTH, (104, Scapagnini y col., citados en la ref. 88) sin embargo el papel específico de determinadas vías ascendentes noradrenérgicas sobre el sistema hipofisario-adrenal no está aún esclarecido.

Las catecolaminas, noradrenalina (N.A.) y adrenalina, están presentes en pequeñas cantidades en la sangre. La N.A. se libera primariamente de los terminales nerviosos simpáticos, mientras que la adrenalina procede de la médula adrenal. Las catecolaminas desaparecen rápidamente de la circulación periférica debido a la recaptura en los terminales nerviosos simpáticos, en el tejido o por degradación enzimática y su vida media en la sangre de rata es menos de un minuto (180).

Numerosos estudios han puesto de manifiesto que el sistema simpático-médula adrenal responde a una gran variedad de estímulos inductores de estrés (180, 264).

Stotsky y col. (253) en estudios "in vitro" han encontrado que el neurotransmisor noradrenalina ejerce un efecto inhibitorio sobre el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal a través de la regulación del factor u hormona liberadora de corticotropina. Pero la dificultad en la medida de la actividad noradrenérgica central hace que este tipo de estudios, que por otra parte son tremendamente atractivos, necesite un mayor número de investigaciones.

Por otra parte, Yoneda y col. (297) han estudiado como se modifican los niveles del ácido  $\gamma$ -amino-butírico (GABA) después de la aplicación de diferentes agentes inductores de estrés.

De este modo, postulan que las situaciones de estrés inducen un aumento en los niveles cerebrales de GABA, que puede contribuir a un aumento en el "pool" de GABA en los terminales nerviosos, el cual puede responder a diversos cambios funcionales en el SNC provocados por las situaciones de estrés.

Además, se ha comprobado que la adrenalectomía aumenta y un alto nivel de glucocorticoides suprime, la captura con alta afinidad de GABA por el hipocampo.

También se ha visto que diferentes agentes inductores de estrés, como el éter entre otros, activan el sistema GABA hipotalámico, el cual sería en ese momento capaz de activar el eje adrenal (175). Así, el sistema H-A-CA, podría estar regulado por un conglomerado de diferentes mecanismos y componentes neuronales según apoyan Haickel y col. (173).

Por lo que respecta a otros mecanismos, Herve y col. y Tissari y col. (citados por ref. 297) han observado que se produce un descenso en los niveles centrales de dopamina en respuesta a la aplicación de una situación de estrés. Phelps y col. (216) encuentran que los sistemas dopaminérgicos cerebrales influyen sobre el desarrollo de patrones comportamentales en los que intervenga una coordinación motora. Sus resultados sugieren que los sistemas dopaminérgicos pueden contribuir al desarrollo de conductas adaptativas en los roedores en la etapa neonatal.

Cambios similares se han detectado también en el metabolismo central de serotonina, el cual se ha visto modificado después de la aplicación de determinados agentes inductores de estrés (Barchas y col. y Gal y col., citados por ref. 297).

Finalmente, cabe recordar también los resultados obtenidos por Otten y col. (213), quienes encontraron que, en ratón, el Factor de Crecimiento Nervioso (NGF) inducía un incremento en la síntesis de ACTH y un prolongado aumento de la concentración de corticosterona en plasma.

### I. 3.- ESTIMULACION NEONATAL.

Se han realizado un gran número de experiencias encaminadas a esclarecer de qué manera las experiencias neonatales, inductoras de estrés, influyen sobre el comportamiento del individuo adulto.

En efecto, en los primeros períodos de la infancia de los mamíferos el medio ambiente comienza a ejercer una poderosa influencia sobre la conducta futura que tendrá el animal adulto. Se ha comprobado que esta conducta, en el caso de la rata, puede verse afectada por ligeros cambios físicos en el ambiente neonatal (18) por el ambiente social que proporcionan madre y camada (136) y por sucesos acaecidos durante la vida intrauterina (178). Se ha llegado incluso a proponer que las experiencias tenidas por la madre antes del parto e incluso antes de la gestación pueden alterar la conducta futura de los hijos en edad adulta (37, 54, 65, 169, 214, 248, 283, 291). Por otra parte, Ader y Friedman (118) han demostrado que, igual que ocurre con el mono y el perro, un aislamiento social completo desde el momento del destete ocasiona un considerable aumento en el nivel de la respuesta emotiva en la rata adulta. El destete prematuro es también otro factor que puede aumentar el nivel emotivo en la rata.

Conviene apuntar aquí que la influencia de las más tempranas experiencias sobre la conducta posterior de mamíferos y más concretamente de roedores, ha sido estudiada durante mucho tiempo, generalmente empezando como simples intentos de probar las hipótesis Freudianas sobre el efecto de los traumas tempranos en la conducta de los adultos. De acuerdo con este punto de vista, en un principio se pensaba que estos tratamientos neonatales podrían tener consecuencias perniciosas sobre el desarrollo del comportamiento de los animales; sin embargo, pronto se vio

(73,74,78) que, por el contrario, este tipo de experiencias podrían ser beneficiosas ya que potenciaban el rendimiento biológico y etológico de los roedores como más adelante detallaremos.

Otros trabajos realizados posteriormente han ido demostrando como diferentes tipos de estímulos pueden producir efectos muy similares; así se han utilizado tratamientos tan dispares como manipulación (75,76,99,269), medio ambiente enriquecido o empobrecido (73,76,77), separación parcial de la madre (30,130), pequeñas descargas eléctricas (18,244), exposición al frío o aislamiento precoz del animal (118,190,268).

En general, se ha encontrado que los tratamientos antes citados (con algunas excepciones que luego detallaremos) reducen la respuesta emotiva de los roedores. Así, por ejemplo, en la rata se reduce la defecación y aumenta la deambulaci3n en el campo abierto (18), tambi3n se acelera la salida de la jaula a un ambiente nuevo, se reanuda antes la acci3n de beber interrumpida por un choque el3ctrico y se aumenta la velocidad y eficacia del aprendizaje de evitaci3n en la caja de dos compartimientos as3 como en determinadas pruebas de aversi3n gustativa (73, 75,76,118,162). Adem3s todos estos efectos tienen una gran estabilidad, perdurando hasta la edad senil (118).

Los casos excepcionales que antes mencion3bamos, en los que la administraci3n temprana de est3mulos ha conducido a un aumento en la intensidad de la respuesta emotiva en la rata adulta, corresponden por lo general a experimentos en los que el adulto ha sido sometido a un estr3s de alta intensidad (118); lo cual nos indica que el problema de la estimulaci3n neonatal tiene diferentes grados de complejidad. En efecto, existe una gran variedad de caminos a trav3s de los cuales el medio ambiente neonatal puede ejercer influencias permanentes sobre el animal adulto; estas influencias adem3s pueden ser de muy diferentes tipos.

Los experimentos de los grupos de Levine (60,132,160,191, 249) y de Denenberg (74,75,76,77,78,137) sobre la interrelación madre-cría y sobre estimulación precoz han intentado aclarar de una forma experimental cual es la ruta fisiológica a través de la cual ejerce sus efectos el medio ambiente neonatal. Estas investigaciones, y otras realizadas por otros grupos, han demostrado que, según sea el tipo de tratamiento y su intensidad, las estimulaciones neonatales pueden afectar tanto al peso corporal, como determinar una precocidad en determinados parámetros físicos como lo son la aparición del pelo, la apertura de los ojos y la locomoción (62,256). Además se producen cambios complejos en el cerebro, incluyendo una precoz mielinización de las neuronas y un aumento en el peso relativo de ciertas áreas cerebrales (143,147) e incluso un aumento relativo de todo el cerebro respecto al peso corporal de los individuos (69), así como un crecimiento y desarrollo precoz de determinadas estructuras cerebrales como el cuerpo calloso (74,78).

I. 3.1.- Estimulación neonatal y respuesta del eje  
H-A-CA al estrés.

Una consecuencia fundamental de los tratamientos neonatales es la aceleración en la maduración del sistema hipofisario-adrenal que, como ya hemos señalado anteriormente, es de suma importancia en la reacción frente al estrés en los mamíferos. Así, por ejemplo, la respuesta corticoadrenal al estrés del frío, que se pudo medir hace ya muchos años por la disminución de ácido ascórbico en la glándula, se observó que no se presentaba hasta el día dieciseis de vida postnatal en los animales no tratados, pero se pudo detectar a los doce días en ratas tratadas neonatalmente (118).

Durante bastante tiempo se ha pensado que las dos primeras semanas de vida en la rata constituían un período de relativa incapacidad de respuesta ante situaciones de estrés. Esta hipótesis se basaba en los niveles de ácido ascórbico adrenales como índice de respuesta al estrés, según hemos comentado anteriormente. Conforme se han ido refinando las técnicas y se han podido medir directamente los niveles de corticoides y ACTH se reconoce que el eje H-A-CA puede dar una respuesta moderada al estrés durante los uno-dos días de vida postnatal. La capacidad de respuesta disminuye a un mínimo en los días cuatro-once aproximadamente, seguido de un aumento progresivo hasta el día veintiuno, presentando entonces una actividad semejante al adulto (123). Además, sobre esas fechas se establece ya el ritmo circadiano de corticosterona (294).

Fenske y col. (96) han puesto de manifiesto que también en conejo el eje H-A-CA llega a ser plenamente funcional alrededor del día veinte de vida postnatal.

Nyakas y col. (208) han comprobado que la ACTH y sus fragmentos, administrados en la etapa neonatal temprana influyen decisivamente sobre el desarrollo y organización de algunos procesos comportamentales adaptativos en ratas, como por ejemplo la mejora en la adquisición de aprendizajes de evitación pasiva.

Por otra parte, Meaney y col. (188) han encontrado que los receptores de glucocorticoides localizados en el sistema límbico, en concreto en la amígdala y en el séptum lateral, que son funcionales en la etapa neonatal, están implicados en la regulación de la conducta "de juego". De este modo es posible que los glucocorticoides puedan actuar directamente sobre sitios neurales que regulan dicha conducta y, por lo tanto, alteren la frecuencia con la cual se produce. Es más, el tratamiento con cor-

ticosterona influye sobre el juego desplegado por las crías machos sólo cuando es aplicado en la primera semana de vida.

El hecho hacia el que se dirigen hoy en día los esfuerzos de los estudiosos del problema es que el sistema H-A-CA parece ser plenamente funcional en las primeras horas que transcurren inmediatamente después del nacimiento, para luego perder la capacidad de responder durante los primeros días y recuperar dicha capacidad durante la tercera semana de vida postnatal como han puesto de manifiesto Guillet y col. (123) entre otros.

Por otra parte, Norris y Kohler ( citados en la ref.188) han encontrado evidencias de la coexistencia de receptores de andrógenos y glucocorticoides en las mismas células. De manera que la exposición a concentraciones concretas de andrógenos (altas) y glucocorticoides (bajas) durante el período neonatal, determinará la expresión de diferentes comportamientos.

Todo ello hace suponer la existencia de un período crítico para la maduración precoz de la respuesta corticoadrenal y, aunque por el momento no hay suficientes datos experimentales para avalar esta hipótesis, el hecho de que exista un período crítico similar para la influencia de los andrógenos sobre la maduración de las diferencias sexuales hace aún más plausible esta teoría.

Finalmente también cabe mencionar el hecho de que diferentes autores, empleando distintos tratamientos neonatales, tales como la manipulación de las crías o el aislamiento social parcial, hayan encontrado que dichos tratamientos determinan un incremento en el peso de las glándulas adrenales de los individuos, que se ve acompañado de unos altos niveles de corticosterona en plasma en algunos casos (59,101).

Por todo lo expuesto anteriormente, parece que existen suficientes evidencias experimentales como para creer que el pri-

mer eslabón de la cadena de acontecimientos fisiológicos por el que las experiencias neonatales influyen sobre la conducta emocional adulta puede empezar por alguna modificación del sistema H-A-CA, sin olvidar las interacciones de este eje con otros sistemas como el gonadal etc... El conocer la naturaleza de esa modificación constituye, sin duda, el siguiente paso que hemos de dar en el esclarecimiento del problema.

Las variables críticas de las que depende que el animal tratado en la infancia manifieste al ser adulto una mayor reactividad corticoadrenal parecen ser de dos tipos:

- 1.- El intervalo de tiempo entre la aplicación del estrés y la medición de la respuesta corticoadrenal.
- 2.- La intensidad del estímulo desencadenante del estrés.

Los experimentos realizados con el fin de esclarecer, tanto el primero como el segundo punto (118), sugieren que la rata tratada en fase neonatal, posee una respuesta corticoadrenal más flexible y adaptable al tipo (intensidad) de estrés que la de la rata no manipulada neonatalmente.

En efecto, Levine y Mullins (162) llegaron a afirmar que la variación de los niveles de corticosteroides adrenales durante la fase neonatal puede tener efectos duraderos sobre el cerebro infantil, de forma que cuanto más se alteren los niveles de hormonas corticoadrenales segregadas durante la primera infancia, mayor es el número de diferentes niveles de actividad que el sistema hipotálamo-adenohipofisario-adrenal es capaz de desplegar en edad adulta. De este modo, nos encontraríamos ante un modelo de respuesta al estrés diferente en los animales tratados en la etapa neonatal por una parte, y en los no tratados por otra.

La observación que acabamos de realizar adquiere su mayor significado cuando se considera a la luz de la función bioló-



gica de la respuesta al estrés. La velocidad y flexibilidad de la respuesta corticoadrenal en un animal manipulado es obvio que sirve al propósito de la movilización inmediata de los recursos del organismo en el momento del estrés. El retraso de la respuesta endocrina en los animales no manipulados indica, por contraste, una mala o mejor dicho distinta adaptación ante situaciones adversas. Más aún, la prolongación de la respuesta al estrés, observada en individuos no tratados, puede tener consecuencias muy dañinas para el propio organismo: úlceras gástricas, susceptibilidad incrementada a la infección y, eventualmente, la muerte debido a exhaustividad adrenal.

La diferente naturaleza adaptativa de la respuesta al estrés en los animales no manipulados se manifiesta también por el hecho de que puede ser inducida por una situación tan moderada como es la prueba de campo abierto (C.A.). El animal que ha sido manipulado en la infancia muestra una respuesta fisiológica al estrés mucho más atenuada en una situación de ese tipo, aunque exhibe una respuesta vigorosa e inmediata cuando el estímulo es de la intensidad de un choque eléctrico, que implica un mayor nivel de dolor y de riesgo de daño físico.

Todo lo que hemos expuesto hasta este momento podría resumirse diciendo que la estimulación neonatal parece influir sobre la respuesta emocional del individuo adulto a través de un mecanismo que implica, en primer lugar, una aceleración en la maduración del sistema H-A-CA y, en segundo lugar, una respuesta corticoadrenal más flexible y adaptable al estrés en época adulta. Todo ello vendría a confirmar lo que ya hemos comentado anteriormente, en el sentido de que un determinado tipo de estimulación neonatal parece ser beneficioso para los roedores, ya que potencia su rendimiento biológico y etológico. Además, también se ha podido comprobar como la estimulación neonatal en

roedores potencia el crecimiento y desarrollo de determinadas estructuras cerebrales, como por ejemplo el cuerpo calloso, favoreciéndose de este modo la comunicación interhemisférica ya en una etapa temprana del desarrollo de los individuos.

Finalmente, quizás convenga recordar aquí que todos los datos y referencias citados anteriormente sobre el carácter adaptativo de las manipulaciones neonatales, se refieren a estudios y experiencias realizadas en laboratorio. Por esta razón antes de realizar una generalización sobre los resultados obtenidos sería conveniente, por una parte extender los estudios a un mayor número de especies animales y por otra, establecer paralelismos entre experiencias de laboratorio y estudios de campo para las mismas especies.

#### I. 3.2.- Estimulación neonatal y respuestas de otros sistemas neurcendocrinos al estrés.

Por último no podemos olvidar que existen muchos trabajos, que se han venido realizando desde hace ya algunos años, con la intención de probar que la intervención de otros sistemas, además del eje H-A-CA, en la etapa neonatal puede tener una importancia decisiva en la conducta posterior del individuo adulto.

De este modo, Grota (122) sugiere que la manipulación de los receptores postsinápticos de serotonina en la primera semana de vida en la rata, da como resultado una reducción permanente en la función adrenocortical.

Turner y col. (270) sugieren que el estrés crónico aplicado en la etapa temprana, puede aumentar permanentemente los niveles de síntesis de adrenalina asociados con situaciones de estrés en animales maduros.

Además, también se ha sugerido que el sistema de neurotransmisores colinérgicos puede alcanzar la madurez funcional, en ratas y en ratones, durante la tercera semana de vida, alrededor de los días quince-veinte. Smith y col. (247) han sugerido que la maduración del sistema colinérgico puede no ser un fenómeno todo-nada. El sistema colinérgico puede estar formado por distintos subsistemas, cada uno de los cuales presenta características propias de maduración durante la ontogenia. Desde un punto de vista comportamental, la existencia de distintos subsistemas con diferentes niveles de desarrollo y madurez, puede determinar, por ejemplo, que los animales muestren respuestas específicas-de-la-edad a determinadas drogas que afectan al sistema colinérgico, antes de que se complete plenamente el desarrollo de las respuestas comportamentales típicas del individuo adulto a esas drogas.

Los resultados obtenidos por Puro y col. (227) indican además que los glucocorticoides pueden regular el desarrollo temporal de determinadas neuronas colinérgicas en la rata, siendo dichas neuronas capaces de responder con la liberación de acetilcolina en respuesta a un estímulo excitatorio.

Por último Cain y col. (48) han encontrado importantes influencias sobre el metabolismo de determinadas fosfoproteínas cerebrales, después de someter a los individuos a una manipulación en la época neonatal o a determinadas alteraciones de su medio ambiente durante ese mismo período.

Después de todo lo que hemos venido exponiendo cabe pensar que diferentes mecanismos y distintas estructuras nerviosas conformen una compleja red de interacciones recíprocas, cuyo estudio, lejos de proporcionar una solución única, plantea día a día nuevos y fascinantes interrogantes.

### I. 3.3.- Efectos comportamentales de la estimulación neonatal.

El medio ambiente social y físico en el que se desarrollan los primeros momentos de la vida de los mamíferos en general, y de los roedores en particular, juega un papel esencial en la expresión posterior de los patrones comportamentales específicos del sexo y de la especie.

Siendo la rata la especie más utilizada en los estudios de comportamiento animal, no es extraño que se hayan diseñado, específicamente para este animal, una gran variedad de pruebas de laboratorio, a través de las cuales el experimentador puede detectar modificaciones de diferentes pautas comportamentales respecto a un patrón dado de conducta.

En los siguientes apartados pasamos a detallar diferentes pautas comportamentales y la posible influencia que sobre ellas puede ejercer la estimulación de los animales en la fase neonatal.

### I. 4.- Respuesta emotiva al estrés: actividad motora y exploratoria.

Los datos obtenidos por una serie muy numerosa de autores han permitido establecer un cuadro de comportamiento, en la rata, asociado a la respuesta emotiva al estrés del medio (39,40, 118,120,233). Sin embargo, la misma noción de "emotividad" es cuestionada por otros investigadores que no admiten una explicación unitaria para una gama tan amplia de conducta (13,14,15, 36,224,246).

En cualquier caso, la polémica actual sobre el concepto de emotividad ha servido para poner de manifiesto la existencia

de multitud de lagunas en el conocimiento de los mecanismos emocionales de la conducta de roedores.

Se han realizado un gran número de estudios atendiendo al sustrato neurofisiológico de la conducta emotiva ante una situación de estrés. La mayor parte de los trabajos en este sentido han tratado de establecer relaciones entre determinados centros o vías nerviosas y la expresión periférica de un estado emocional determinado. Las estructuras del sistema límbico, del hipotálamo y de la formación reticular mesencefálica han sido las estudiadas con mayor intensidad (210,236,243,279). Por citar algún ejemplo, podemos decir que la lesión bilateral de los cuerpos mamilares aumenta la exploración y disminuye la defecación en C.A.(236). Por otra parte, determinadas lesiones del cortex límbico frontal producen un descenso en la defecación acompañado de un aumento en la deambulación interna (202).

De este modo se han tratado de establecer circuitos nerviosos responsables de las diferentes respuestas emocionales ante un medio ambiente más o menos hostil, aunque aún se está lejos de resolver los complejos problemas que plantea dicho objetivo.

Después de un gran número de experiencias realizadas se ha podido poner de manifiesto varios factores que juegan un importante papel en la respuesta emotiva de un individuo ante situaciones adversas. Así, se ha comprobado, a través de diferentes estudios, como los factores sociales tienen una importancia decisiva. En este sentido, merecen tenerse en cuenta los trabajos de Christian (55,57,58), quien ha diseñado un modelo de respuestas fisiológicas que pone claramente de manifiesto que el hacinamiento puede actuar como un "inductor general de estrés", determinando un síndrome complejo de alteraciones somáticas y diversas patologías. En el sentido opuesto, también se ha podido comprobar como el aislamiento social determina graves altera-

ciones en la respuesta emocional de los individuos que lo padecen, adaptándose peor que los controles a los nuevos ambientes (100,198,281).

El estado hormonal del individuo también va a ejercer una influencia decisiva. Así, se ha podido probar que existe una relación entre las hormonas gonadales y la respuesta emotiva en la rata. Muchas son las referencias que existen a este respecto, pero quizás el hecho más relevante sea que se haya comprobado que las diferencias sexuales en la respuesta emotiva aparecen, en la rata, justo cuando adquieren la madurez sexual (cincuenta-sesenta días de edad), lo cual hace inmediata su relación con la dotación hormonal propia de cada sexo (para revisión ver ref.133).

Pero también existen otras hormonas que pueden tener un gran peso en la respuesta del organismo ante una situación adversa. En concreto, las que forman parte del eje H-A-CA. De forma que quizás exista también un dimorfismo sexual para las hormonas de este eje en la respuesta emitida. Y, por otra parte, si existe un período crítico perinatal para la maduración de dicho eje, (de forma similar a como sucede con el eje hipotálamo-gonadal), determinadas manipulaciones del medio externo que rodea a las crías podrían afectar de forma duradera y estable a la actividad, por ejemplo, de las hormonas que forman parte de él (162).

#### I. 4.1.- Estimulación neonatal y respuesta emotiva al estrés.

En este sentido, se han realizado un gran número de trabajos que intentan aclarar hasta qué punto una determinada situación de estrés, aplicada en un momento especialmente crítico para la vida del individuo, como lo es la fase neonatal (entre

el nacimiento y el destete), puede determinar alteraciones permanentes en la respuesta emotiva del animal adulto ante situaciones adversas.

De este modo, se han estudiado diferentes tipos de alteraciones del medio ambiente neonatal. Por una parte el medio ambiente social debe jugar un papel esencial sobre el individuo, y alteraciones tales como la separación temporal de la madre, el destete prematuro o el aislamiento social completo en la infancia (3,4) deben ser de una importancia decisiva. También se ha comprobado que el medio ambiente físico ejerce una poderosa influencia. Así, se ha visto que la exposición de las crías al frío o al calor, o bien la aplicación de pequeños estímulos eléctricos pueden influir decisivamente sobre la respuesta emotiva del animal adulto al estrés, encontrándose, por ejemplo, que la actividad desarrollada en la prueba de C.A. en la edad adulta, por ratas sometidas a tratamiento neonatal (manipulación) es mayor que la desplegada por los animales controles no manipulados, observándose también que los individuos manipulados en la infancia defecan menos en esta prueba. Todos estos resultados los describe Denenberg en uno de sus trabajos más clásicos (72,77). Estos mismos resultados también han sido comprobados por el propio Denenberg en conejos (78).

Por otra parte, Ardila y col. (18) trabajaron con ratones y utilizaron otro diseño experimental consistente en la utilización del denominado "medio ambiente enriquecido" (con gran abundancia de objetos de diferentes texturas, formas y colores) y "medio ambiente empobrecido" (con estímulos sensoriales muy limitados). Los resultados que obtuvieron se mantenían en la misma línea, de manera que los ratones criados en medio enriquecido exploraban más y defecaban menos en la prueba de C.A..

Los resultados de los experimentos de S.E. File utilizando un C.A. modificado (99) apoyan la interpretación de los demás autores, en el sentido de que la "manipulación" de las crías durante la lactación aumenta la capacidad de exploración tanto en una etapa juvenil como adulta.

De este modo podemos pensar que el efecto general, aunque no universal, de someter a las crías de rata a una determinada manipulación puede influir decisivamente sobre la respuesta emotiva al estrés del medio que exhibirá el individuo adulto. Según estos resultados la manipulación podría actuar directamente aumentando la actividad general y la exploración de los individuos, o bien reduciendo el nivel de temerosidad, aceptando en este caso que temerosidad y exploración están inversamente relacionados.

#### I. 4.2.- Elección del procedimiento.

Varios son los factores ecológicos y etológicos en los que se basan las pruebas de laboratorio más comúnmente utilizadas para medir la actividad motora espontánea y la respuesta de exploración, de los roedores en general y de la rata en concreto, ante un medio ambiente potencialmente adverso y de este modo obtener un índice indirecto sobre el estado emotivo del animal ante una situación de estrés.

Todas las pruebas ideadas hasta el momento se basan en tres características principales, éstas son: la fotofobia, la tigmotaxia y la neofobia. Para comprender el motivo de su utilización quizás sea necesario decir aquí que la rata es un animal de costumbres nocturnas, que vive formando colonias en madrigueras relativamente estrechas. De este modo, la rata presenta unas características óptimas, como son la predilección



por los ambientes poco iluminados, así como por tener el cuerpo en contacto con objetos y paredes y una tendencia a mantenerse en grupo, esta última es una característica típica de los animales que viven formando colonias o grupos.

Por otra parte, la curiosidad y el deseo de explorar son aspectos fundamentales en la conducta de los mamíferos que tienen una enorme importancia adaptativa. Esta necesidad de exploración motivada por su curiosidad espontánea, se manifiesta en un despliegue de actividad al colocar al animal en un recinto nuevo. Evidentemente, la actividad variará de forma distinta dependiendo del grado de novedad, o incluso de adversidad, que el nuevo medio constituya para el animal.

Todas estas características aunque atenuadas, son todavía perfectamente reconocibles en la rata de laboratorio, aislada durante cientos de generaciones a partir de cepas albinas de Rattus norvegicus.

De este modo, dos han sido las pruebas elegidas por nosotros para medir la actividad y exploración en nuestros animales como respuesta a dos situaciones inductoras de estrés, una de intensidad baja (Actímetro) y otra media (C.A.).

#### I. 4.2.1.- Prueba de Actímetro.

Existen varias pruebas que se utilizan para medir la actividad motora, entre ellas podríamos citar: las ruedas giratorias, las jaulas de ladeo (64) o el actímetro (52,281). En las dos primeras se incluyen en el registro obtenido movimientos forzados que están fuera del repertorio habitual del animal y además no es posible tener en cuenta movimientos a los que nosotros atribuimos gran importancia por su posible significación emotiva, como la postura erguida o los atusamientos rostral o corporal entre otros. Por todo ello, la prueba que

hemos elegido es el actímetro.

En resumen, podemos decir que la prueba de actímetro nos permite obtener datos numéricos sobre la actividad motora individual de los animales, en condiciones casi idénticas a las de su vida en el estabulario, es decir, prácticamente en ausencia de estrés. Conviene indicar, sin embargo, que esta ausencia no es total ya que al menos dos factores, manejados en esta prueba, son susceptibles de inducir estrés en la rata: la neofobia producida por un ambiente nuevo y el aislamiento temporal de sus compañeros de jaula. Ambos factores podrían producir una reacción emotiva en el animal, que se vería reflejada en el despliegue de su actividad a lo largo del período de tiempo establecido para la prueba (cuatro horas en la mayor parte de los casos).

La descripción y desarrollo de la prueba se detalla en el correspondiente apartado de Material y Métodos.

#### I. 4.2.2.- Prueba de Campo Abierto.

La prueba de C.A. fue ideada por C.S. Hall en 1934 (125) y perfeccionada por P.L. Broadhurst en 1960 (39). Aunque nos referiremos a esta prueba aplicándola al caso concreto de la rata, trabajos recientes la han adaptado a una gama más extensa de animales (197,293). Consiste básicamente en un recinto circular y descubierto, fuertemente iluminado, donde es colocado el animal para medir su actividad. Dadas las características de fotofobia, tigmotaxia y neofobia ya comentadas, este recinto constituye para la rata un medio adverso, que inducirá en el animal una respuesta emotiva que suele traducirse en una pérdida de su capacidad exploratoria. Además, debemos valorar de manera distinta los desplazamientos realizados en zonas próximas (deambulación externa) que los realizados en zonas aleja-

das de la pared (deambulaci3n interna), ya que la respuesta de tigmotaxia s3lo se inhibe cuando el nivel emotivo del animal es bajo y se aventura a desplazarse hacia el centro del recinto. La postura erguida es otra manifestaci3n de la actividad motora general de la rata (259) que tambi3n puede medirse en esta prueba.

Price y Huck (224) han utilizado esta prueba para comparar poblaciones salvajes de R. norvegicus con poblaciones de laboratorio, observando pautas semejantes de conducta en ambas, aunque encontrando que las ratas salvajes presentaban mayores tiempos de inactividad, a la vez que mostraban una tendencia a defecar m3s; todo ello ha querido ser interpretado por algunos autores como un apoyo de que el C.A. pone, en efecto, de manifiesto una respuesta emotiva en la rata. Dicha respuesta supone la existencia de complejas interacciones entre locomoci3n, exploraci3n y emotividad en la rata (254).

Estos, y otros resultados, nos han sugerido la inclusi3n en las variables a contabilizar en la prueba de C.A., del Tiempo de Inmovilidad (T.I.) (definido en el apartado correspondiente de Material y M3todos), pensando que podr3a arrojar alguna luz o reforzar la interpretaci3n de otros par3metros medidos, en el sentido de comprobar si la respuesta emocional al estr3s en el C.A. es diferente en los distintos grupos de tratamiento neonatal.

La defecaci3n en el C.A. es, sin duda, el par3metro de mayor complejidad en esta prueba y el que ha tenido una interpretaci3n m3s pol3mica. Muchos autores la consideran un 3ndice de valor emotivo bas3ndose, entre otros hechos, en que es frecuente encontrar una correlaci3n negativa entre la exploraci3n y el n3mero de defecaciones (39,40,117,119,120). Otros autores, sin embargo, no comparten esta interpretaci3n, prefiriendo plan

tear la hipótesis de que las diferencias en defecación aparecidas en las pruebas de C.A. se deben a factores diversos, especialmente al efecto de las hormonas gonadales sobre el peso corporal y la ingesta de los animales (15).

De acuerdo con lo antedicho, en nuestra opinión, la defecación en C.A. debe ser una variable a utilizar con sumo cuidado, y en cualquier caso, su interpretación como índice de nivel emotivo debe siempre de ir confirmada por otro tipo de observaciones consistentes.

Finalmente la prueba de C.A. ha sido reiteradamente utilizada para poner de manifiesto las diferencias sexuales en actividad, exploración y defecación en la rata (31,35,42,120,121,276), así como para estudiar éstas y otras diferencias que podrían presentarse entre diferentes grupos de animales sometidos a distintas manipulaciones neonatales (18,77,99).

Todos estos datos parecen confirmar la eficacia del C.A. para medir la capacidad de exploración, la actividad motora y la defecación en la rata. El análisis de dichos parámetros nos servirá para deducir, con las reservas que ya hemos señalado (14,15), la respuesta emotiva de nuestros animales ante una situación de estrés moderado; así como nos permitirá apreciar las modificaciones que en este comportamiento hayan podido producir las alteraciones del ambiente neonatal que tratamos de estudiar en el presente trabajo.

## I. 5.- CONDUCTA AGRESIVA.

La conducta agresiva representa una de las formas más extendidas de comportamiento que es posible encontrar entre animales que viven en un determinado ambiente social.

El mero hecho de querer definir la conducta agresiva ha sido motivo de gran controversia entre los autores, de este modo N. Tinbergen (citado por ref. 133) la definió en 1968 de una forma tan genérica como la siguiente : "...la agresión significa acercarse a un adversario y, cuando se le ha alcanzado, acosarle, inflinjrle un daño del tipo que sea, o al menos obligarle mediante amenazas a que se someta".

### I. 5.1.- Agresión en la naturaleza.

Una definición tan amplia como la expuesta nos pondría en situación difícil para sistematizar un estudio sobre la agresión, puesto que los contornos de esa conducta quedarían enormemente difusos. De ahí la necesidad de comenzar distinguiendo los dos tipos fundamentales de agresión que aparecen en la naturaleza.

- a) Agresión intraespecífica, que se produce entre animales de la misma especie y que es casi universal entre los vertebrados.
- b) Agresión interespecífica, que ocurre entre individuos de distintas especies, y cuya forma más usual es la que conocemos como comportamiento depredatorio.

Esta distinción básica, que es comúnmente aceptada por los etólogos, tiene además importantes correlaciones neurofisiológicas ya que parecen estar implicados diferentes mecanismos en la base de ambos tipos de agresión (2,27,286).

Conviene aclarar aquí que quizás los estudios más recientes consideran esta división muy simplificadora y tienden a realizar

subdivisiones, así por ejemplo Moyer ( citado por ref. 9) y Valzelli (277) hablan de agresión depredatoria, intermachos, maternal, territorial, inducida por miedo, relacionada con el sexo y otras.

#### I. 5.2.- Consideraciones etológicas sobre la agresión intraespecífica.

Desde un punto de vista etológico la agresión intraespecífica se explica por la competencia por el alimento, el territorio y la pareja sexual, lo cual determinará en muchos casos la aparición de una jerarquización social. Este fenómeno implica la existencia de un mecanismo que garantiza la distribución de los individuos de forma que su espaciamiento les permita satisfacer sus necesidades sin establecer excesivos conflictos entre ellos, lo cual iría en detrimento del conjunto de la especie. Es evidente que la agresión intraespecífica ha jugado un importante papel desde un punto de vista evolutivo. De este modo, se explica el hecho de que, en multitud de ocasiones, el comportamiento agresivo se haya ritualizado, manifestándose mediante una serie de posturas estereotipadas, que permiten que los individuos midan sus fuerzas sin ocasionarse graves daños físicos; lo cual, de producirse con frecuencia, podría poner en peligro la supervivencia de la especie.

#### I. 5.3.- La agresión intraespecífica en la rata.

La rata es un animal de costumbres nocturnas, que en su medio natural vive formando colonias numerosas y protegiéndose en madrigueras; como ya se comentó en el apartado I.4 pero hay que señalar además, que se observa en ella un comportamiento territorial, lo cual quiere decir que vive en un área que el

animal reconoce y que se apresta a defender en todo momento ante la invasión de cualquier individuo extraño a la colonia. En estos procesos juega un papel muy importante la capacidad olfativa (25).

Es necesario distinguir el distinto papel que en la defensa del territorio juegan los machos y las hembras de la colonia: normalmente es competencia exclusiva de los machos la defensa del área territorial, mientras que las hembras se limitan a defender la zona donde está ubicado el nido.

En estudios de laboratorio se ha podido comprobar reiteradamente que las ratas y otros roedores hembras despliegan la misma gama de posturas agresivas que los machos, pero que cuantitativamente luchan menos (6,110). Este hecho es fácilmente explicable ya que, como es sabido, los andrógenos tienen una gran importancia sobre la agresividad (139).

La agresión intraespecífica dirigida contra un intruso no debe confundirse con la que se manifiesta entre individuos de la misma colonia para establecer una jerarquización social: en el primer caso el criterio que prevalece es el de la territorialidad, en el segundo lo que se busca es el establecimiento de relaciones de dominancia.

En líneas generales, la rata de laboratorio muestra un comportamiento agresivo semejante al de las salvajes, aunque cuantitativamente su tasa de conducta agresiva es menor (28,223).

En los grupos de ratas que ocupan una misma jaula, en un laboratorio, se establecen relaciones de dominancia, que se manifiestan en el acceso prioritario a la comida y bebida (6), así como en el acicalado del lomo del subordinado (285).

#### I. 5.4.- Mecanismos neuroendocrinos y agresión intraespecífica.

Además de la influencia de los andrógenos que ya hemos mencionado, a lo largo de los últimos años se han realizado un gran número de estudios con la intención de comprobar la influencia sobre la conducta agresiva, de otros mecanismos hormonales diferentes del eje hipotálamo-gonadal. Así, diferentes autores han llegado a postular, por ejemplo, la existencia de un dimorfismo sexual expresado en la respuesta de ciertas hormonas que se produce ante una situación agresiva (38) y también la influencia de diferentes mecanismos hormonales sobre distintos tipos de agresión (158). Pero los resultados más relevantes son quizás los que atribuyen al eje H-A-CA una intervención importante en la expresión de la conducta agresiva (128,156,157,219,231,237).

Por otra parte, parece probable que determinadas alteraciones en el eje hipotálamo-adrenal modifiquen la conducta agresiva, bien directamente afectando a los sistemas del SNC que controlan esta conducta o bien indirectamente alterando el balance entre los mecanismos centrales de miedo y agresión (231). De este modo, tanto la ACTH como los glucocorticoides ejercerían profundos efectos sobre aquellas áreas cerebrales implicadas directamente en la mediación de las conductas de agresión y de miedo. También es interesante señalar, tal como lo hacen Roger y Semple, que tales lugares (por ejemplo la amígdala) están profundamente implicados en la función hipofisaria-adrenal, como han puesto de manifiesto muchos trabajos, utilizando técnicas de lesión y de estimulación entre otras (231).

Politch (219) basándose en el modelo de hormonas y conducta agresiva propuesto por Leshner (156) sugiere que los niveles de actividad basal del eje hipofisario-adrenal son importantes



en la determinación de diferencias individuales en la conducta agresiva, y sus estudios indican que animales con niveles basales altos de las hormonas del eje H-A-CA son menos agresivos de lo que cabría esperar cuando se enfrentan a un conespecífico nuevo. También ha podido observar que aunque haya un aumento en los niveles de corticosterona cuando se produce un encuentro con un conespecífico, este cambio en la actividad adrenal no está directamente relacionado con el nivel de agresividad.

De este modo, diferentes autores (128,156,157,219) han llegado a proponer un papel diferente para la ACTH y para los glucocorticoides, de forma que existan hormonas específicas del eje pituitario-adrenal que afecten también a comportamientos tales como agresión o sumisión. En el caso de la agresividad, niveles altos de la hormona hipofisaria ACTH parecen predisponer al animal a ser menos agresivo. Por otra parte, en el caso de la sumisión, existen evidencias indirectas de que la hormona principal del eje H-A-CA es la corticosterona, mientras que los niveles de ACTH parecen no ser relevantes (157,158).

Además cabe señalar, que a lo largo de la última década han sido muchos los trabajos encaminados a aclarar qué mecanismos cerebrales y qué estructuras nerviosas están directamente implicadas en la conducta agresiva. En general se ha encontrado que son las estructuras del sistema límbico las principalmente implicadas (amígdala, séptum, hipocampo...) y que las interconexiones entre estas áreas y otras que poseen también una gran importancia en la expresión de la conducta agresiva, tales como el hipotálamo, el tálamo, el cortex olfativo y el visual, son extremadamente complejas (9,53,92,141,152,226).

#### I. 5.5.- La agresión interespecífica en la rata. Conducta muricida.

Ya hemos dicho que la agresión interespecífica se define como aquélla que se establece entre animales de distintas especies. En el caso de la rata y el gato (1,102) ha sido estudiada la conducta muricida, que es aquélla que de forma espontánea despliegan, en ciertas ocasiones, estos animales contra un ratón y que normalmente implica la muerte de éste.

También en laboratorio se ha observado que la rata albina puede desarrollar conducta depredatoria sobre el ratón albino (Mus musculus).

Durante los últimos quince años se han realizado un gran número de trabajos dirigidos a comprender la fisiología de esta conducta. Ciertas observaciones indican que la conducta muricida no es "inevitable" en un encuentro rata-ratón. Hay evidencias de que tanto factores genéticos como ambientales, afectan a la frecuencia del proceso.

En este sentido, se ha podido comprobar como existen multitud de factores que influyen sobre la conducta muricida, tales como: las oscilaciones diarias en la concentración de determinados neurotransmisores y las hormonas del cortex adrenal y la glándula hipofisaria (235).

#### I. 5.6.- Mecanismos neuroendocrinos y agresión interespecífica.

También se ha observado como la estimulación de determinados centros, como los núcleos del rafe por ejemplo, juega un papel importante en la expresión de esta conducta agresiva (225).

Además, se ha podido comprobar como determinados daños cerebrales que afectan directamente al contenido cerebral de serotonina facilitan la conducta de agresión muricida (278,280).

Algunos autores afirman que existe una relación entre la lucha intraespecífica y el comportamiento muricida, relacionando ambos tipos de agresión con el nivel de andrógenos (21,27,107,108,232). Sin embargo, tal interpretación sigue hoy sujeta a controversia y ha sido cuestionada entre otros por Scott (240) y Moyer (201).

También podemos encontrar un gran número de trabajos que parecen indicar que algunos comportamientos agresivos entre congéneres son independientes de la conducta muricida en la rata (22,23,140,145,150).

De acuerdo con estos y con otros resultados, aparentemente contradictorios, los investigadores de la agresión animal se han alineado en torno a dos concepciones antagónicas:

- 1.- La defendida por Moyer (200,201) que mantiene la necesidad de distinguir entre agresión "depredatoria" y "agresión intermachos", basándose entre otras razones en los efectos mínimos del estatus hormonal en la primera comparada con la segunda.
- 2.- Los autores que niegan la necesidad de realizar una distinción de este tipo (21,232).

En este punto quizás sea conveniente adelantar que, de acuerdo con la revisión bibliográfica que hemos realizado, podríamos afirmar que existen suficientes evidencias experimentales de que la agresión no es un concepto unitario. En el aspecto que nos preocupa, parece evidente que la conducta muricida y la agresión interespecífica en la rata son conductas claramente diferentes desde el punto de vista del objeto del ataque, de la topografía del ataque y de los sustratos fisiológicos implicados,

ya que diferentes manipulaciones fisiológicas no afectan por igual a ambos tipos de comportamiento agresivo (53,146,200,298). Sin embargo existe un cierto grado de solapamiento cuya naturaleza y extensión no es conocido con exactitud por el momento. Los mecanismos nerviosos más importantes para la expresión de la conducta muricida parecen estar implicados también en otras conductas agresivas de la rata. De manera que al dañar una determinada zona se produce un cuadro complejo y múltiple de conducta agresiva distorsionada (10, 296).

En resumen podemos aceptar como válida la hipótesis de que la conducta muricida tiene áreas neurofisiológicas y endocrinas de solapamiento con la agresión intraespecífica, pero insistiendo en el hecho de que estamos ante un comportamiento que debe tener un fuerte componente genético y sobre el que influyen otras variables ontogénicas y fisiológicas como, por ejemplo, el momento de la aparición y posterior estabilización de dicha conducta, el hecho de haber tenido o no el animal una experiencia muricida previa, etc.

#### I. 5.7.- Manipulación neonatal y conducta agresiva.

La influencia de la estimulación temprana, por medio de alteraciones físicas o sociales del medio ambiente, sobre el desarrollo posterior de la conducta agresiva ha sido muy poco estudiada. Por otra parte, son también muy pocos los trabajos que han realizado un estudio ontogénico de la conducta agresiva, quizás debido en gran parte a que antes de los cincuenta-sesenta días de vida, en roedores, no se ha encontrado una verdadera conducta de lucha, sino otro tipo de comportamiento que se ha denominado "play fighting" o "social play".

Tal y como sucede en otras muchas especies, este tipo de comportamiento en la rata no es fácil de definir, aunque se distingue perfectamente de los encuentros agresivos de los adultos. Se ha podido comprobar que el "play fighting" emerge sobre los quince-dieciseis días de vida y va aumentando en su frecuencia hasta alcanzar un máximo sobre los treinta-cuarenta días de edad (187, citado por ref. 260). De este modo se puede observar como una pauta de comportamiento cambia considerablemente a lo largo de la vida de un organismo.

La influencia del medio ambiente social durante el período crítico de desarrollo postnatal es decisiva para los mamíferos. Las primeras experiencias llevadas a cabo por Seay y Harlow y por Melzack y Scott (190,241) entre otros, trabajando con monos y perros respectivamente, pusieron de manifiesto la extraordinaria importancia que ejerce el medio ambiente social sobre el desarrollo emocional de los individuos a lo largo de su vida y que se hace claramente evidente en la edad adulta.

Posteriormente diferentes autores entre los que cabría citar a Whelton y O'Boyle (286) han puesto de manifiesto hasta qué punto una determinada manipulación neonatal de los individuos puede afectar, en concreto, a la expresión de la conducta agresiva. Estos autores han estudiado, dos tipos de agresión, la lucha intraespecífica y la agresión depredatoria en ratón. Puesto que se ha postulado reiteradamente que ambos tipos de conducta agresiva son diferentes desde muchos puntos de vista (objeto del ataque, estado motivacional, bases neuroendocrinas...), aunque mantienen ciertas áreas de solapamiento, era previsible que se encontraran diferencias sobre la influencia del medio ambiente social temprano en ambos comportamientos. Así, los animales criados en aislamiento social presentaron mayores niveles de agresión intraespecífica que los criados en una situación social, pero no encontraron diferencias entre ambos grupos en

agresión interespecífica. Estos resultados indican que ambos tipos de conducta agresiva no se ven afectados del mismo modo por el tratamiento neonatal empleado por estos autores.

En este mismo sentido se pueden interpretar los resultados de Adamec y col. (1), estudiando la conducta de agresión en gatos. Dichos autores postulan que el desarrollo de la conducta de ataque, en edad adulta, depende en parte del balance entre mecanismos neurobiológicos de defensa y ataque, a favor de estos últimos. Y este balance puede verse alterado, de alguna manera, por aplicación de determinados tratamientos neonatales. En efecto, los resultados obtenidos por Adamec y col. parecen indicar que el tratamiento de tipo social empleado por ellos no influye sobre la conducta de agresión depredatoria, pero si parece en cambio mejorar la predisposición de los animales a la defensa.

Taylor (263) también ha encontrado que el aislamiento social temprano afecta a la conducta agresiva del individuo adulto. Así, los animales sometidos a aislamiento social completo mostraron unos mayores niveles de lucha intraespecífica que los animales criados en una situación social o en una situación social enriquecida.

En este mismo sentido Thor y col. (269) han detectado alteraciones comportamentales debidas a estimulación neonatal y también nosotros mismos en trabajos previos realizados en este laboratorio (112,113) hemos podido observar como alteraciones físicas o sociales en el medio ambiente neonatal pueden afectar decisivamente el desarrollo de la conducta agresiva en el individuo.

Por otra parte, el medio ambiente hormonal, durante los primeros días de vida, parece ser crítico para la expresión de un gran número de actitudes comportamentales en la edad adulta, puesto que pequeñas alteraciones en el estado hormonal temprano

pueden producir modificaciones profundas y duraderas sobre los patrones comportamentales del adulto. Aunque la mayor parte de los estudios se han enfocado hacia el papel de las hormonas gonadales sobre la respuesta agresiva, diferentes trabajos, desde la década de los setenta, se han venido realizando con la intención de aclarar el papel de las hormonas del eje adrenal sobre la conducta agresiva. Así, se ha podido comprobar como diferentes manipulaciones del eje H-A-CA afectan de una manera directa y acusada a la conducta emocional del individuo adulto.

Leshner y Schwartz (159), han encontrado que un incremento en los niveles de corticosterona en la etapa neonatal produce un aumento en la respuesta de sumisión en pruebas de agresión intraespecífica realizadas en edad adulta. Sus resultados los interpretan señalando varias hipótesis alternativas. Una de ellas se basa en explicar ese incremento en la sumisión a través de una alteración permanente en la actividad del eje adrenal, que podría encontrarse a cualquiera de los tres niveles, es decir, hipotálamo, adenohipófisis y/o corteza adrenal. Otra posible alternativa es que la conducta agresiva se vea alterada, a favor de un incremento en la sumisión, por efecto de algún cambio permanente en el estado de los circuitos nerviosos implicados en la conducta agresiva y en concreto en la pauta de sumisión.

Después de varios años de estudio parece estar bien establecida la relación entre las hormonas del eje adrenal y la conducta agresiva en general, tal como describen Rodgers y Semple (231). Los propios resultados obtenidos por estos autores indican que un incremento en los niveles hormonales de ACTH aumenta la temerosidad del individuo, mientras que por el contrario, niveles bajos de ACTH disminuyen la temerosidad.

De este modo parece posible que altos niveles de ACTH disminuyan la lucha intraespecífica, a través de un incremento en

la temerosidad. En la agresión inducida por choque eléctrico, donde se suponen unos altos niveles de temerosidad, un tratamiento que induzca un aumento en los niveles de ACTH determinará también de una forma indirecta, un incremento en las actitudes de evitación y escape, en vez de favorecer la respuesta de ataque. De este modo, Rodgers y Semple postulan que la manipulación del eje adrenal puede alterar de forma estable y duradera determinadas pautas de conducta que supongan un alto nivel emotivo y que estén motivadas por miedo.

Con todo lo expuesto anteriormente cabe pensar que determinados factores internos, en concreto factores hormonales y neurales, que determinarán posteriormente la expresión de la conducta agresiva normal del individuo adulto, pueden verse de alguna manera afectados por las situaciones físicas o sociales a las que los animales se ven sometidos en sus primeros estadios de vida postnatal.

#### I. 5.8.- Elección del procedimiento.

El objetivo de este apartado del trabajo ha sido estudiar el desarrollo de la conducta de agresión intraespecífica por un lado e interespecífica (conducta muricida) por otro, a lo largo de la vida de los individuos y ver si se producen modificaciones en alguna de las dos o en ambas a la vez, como consecuencia de las manipulaciones del ambiente físico o social a las que se vieron sometidos los animales de los diferentes grupos de tratamiento durante la etapa neonatal.

El planteamiento de partida es que las manipulaciones neonatales, como ya se ha indicado, afectan al desarrollo del eje H-A-CA (59,101,118,162,188,208), modificando de esta forma la respuesta al estrés de los animales en edad adulta. Por lo tanto,



dichas alteraciones deberán influir sobre la componente emocional que es de gran importancia en el comportamiento agresivo. De acuerdo con esta hipótesis, los efectos de las manipulaciones tempranas sobre los diferentes tipos de agresión (intra o interespecífica) en el animal adulto serán diferentes por serlo también la componente emocional en ambos tipos de conducta agresiva.

Por otra parte, al realizar el estudio con machos y hembras podremos comprobar si un tratamiento determinado afecta por igual a ambos sexos a lo largo del desarrollo o si por el contrario alguno de ellos resulta más o menos afectado. Cuestión que resulta interesante abordar a la vista de los diferentes patrones de comportamiento agresivo que se aprecian en función del sexo y que tienen su correlato neurofisiológico y endocrino ( 2,156,201,240,273).

#### I. 5.8.1.- Agresión intraespecífica.

La agresión intraespecífica en ratas puede ser inducida en laboratorio tanto en machos como en hembras mediante diversos procedimientos. Los más frecuentemente utilizados son:

- 1) La competencia por la comida, método empleado por Drews y Wulczyn (86), Maroni y Masur (177) y Price y col. (223) entre otros.
- 2) La agresión inducida por choque eléctrico, método basado en las observaciones de Ulrich y col. (271,272) y Azrin y col. (20), quienes han demostrado que la lucha puede ser inducida por dolor, en la mayor parte de los vertebrados, siendo el estímulo doloroso más utilizado el producido por choque eléctrico (44,47,53,92,139,151).

La técnica utilizada en nuestro trabajo ha sido la lucha inducida por dolor (choque eléctrico). La hemos elegido por su

sencillez, porque es fácilmente reproducible y por ser la más utilizada en estudios de laboratorio actualmente, pero sobre todo porque permite una observación muy directa del comportamiento agresivo de un individuo frente a su oponente, lo cual es un aspecto fundamental para poder obtener un cuadro lo más complejo posible de las posturas agresivas aparecidas durante la lucha.

El aparato que hemos utilizado, el desarrollo de la prueba y las actitudes estudiadas se detallan en el apartado correspondiente de Material y Métodos.

#### I. 5.8.2.- Agresión interespecífica.

Diferentes técnicas se utilizan en laboratorio para inducir conducta muricida en la rata; las más utilizadas son:

- a) Choque eléctrico, método descrito por Baenninger en 1974 (21).
- b) Privación cíclica de alimento, técnica empleada por Malick (174).
- c) Por simple presencia del ratón durante un tiempo más dilatado que el empleado en las técnicas anteriores; es el método empleado entre otros por Barr y col. (27).

A nuestro juicio, la última de las señaladas es la técnica que ofrece la ventaja de ser la que más respeta la espontaneidad de la conducta muricida de la rata sin interferir con otras manipulaciones experimentales; por eso ha sido la que hemos elegido para realizar nuestro trabajo.

El desarrollo de la prueba y las condiciones empleadas se detallan en el apartado correspondiente de Material y Métodos.

## I. 6.- CONDUCTA SEXUAL.

### I. 6.1.- La conducta sexual en ratas.

La conducta sexual de las ratas de laboratorio ha sido objeto de investigación durante más de medio siglo, constituyendo en gran medida la base sobre la que se apoya el conocimiento actual sobre la fisiología y el comportamiento reproductivo en mamíferos.

Desde el principio, la atención se ha dirigido predominantemente a la acción copulatoria aislada. La monta de los machos y la reacción lordótica de las hembras, que luego explicaremos, satisfacen bastante bien el ideal de todo trabajo experimental: son pautas de conducta fácilmente identificables y su reiteración facilita el análisis cuantitativo (134,215).

Desde hace algunos años se vienen realizando diferentes experimentos con la intención de describir y cuantificar el papel del comportamiento copulador de la hembra, ya que, desde la década de los setenta, se tiende a considerar que el modelo copulatorio en ratas debe estar altamente integrado en el control de los acontecimientos hormonales y neurofisiológicos, necesarios para una gestación con éxito (79,181).

Atendiendo a esta moderna interpretación hemos tenido en cuenta una amplia serie de pautas de comportamiento, no sólo de los machos sino también de las hembras, durante el encuentro sexual, además de controlar una serie de factores que hemos considerado importantes para garantizar unas condiciones homogéneas en las pruebas de conducta sexual: fase de estro, peso del animal, hora del día y experiencia sexual previa fundamentalmente, como luego detallaremos en el apartado correspondiente.

Para decidir que tipos de actitudes debíamos medir en nuestros experimentos hemos atendido a la clasificación que sobre la conducta sexual en ratas hacen diferentes autores, pero principalmente Madlafousek y Hlíňak (1971). En dicha clasificación de las pautas sexuales se distinguen varias fases que podrían resumirse así:

- 1.- Conducta precopulatoria. Abarca los procesos que preceden al acto copulatorio: aseo corporal y de la pareja, olfateos ano-genital y corporal, persecuciones, intentos de monta del macho y saltos de flecha de la hembra, etc. Todo este despliegue de comportamiento observado ha dado lugar al término "motivación sexual". Los posibles procesos de motivación sexual son el resultado de una interacción entre estímulos sensoriales y algunas influencias hormonales, estando ambos factores asociados en niveles de integración nerviosa central.
- 2.- Conducta copularoria. Caracterizada por las actitudes de monta del macho y de lordosis de la hembra, sobre cuya descripción nos extenderemos más adelante en el apartado de Material y Métodos.
- 3.- Conducta postcopulatoria. La cópula de las ratas normalmente se repite sucesivas veces en cortos períodos de tiempo, dando lugar a lo que se ha denominado secuencias de apareamiento. En cada una de ellas el macho realiza múltiples montas con intromisión y finalmente una con eyaculación. Seguidamente, el macho presenta un período refractario sexual antes de comenzar otra vez otra secuencia sexual que culminará en subsecuentes eyaculaciones que completan cada nueva secuencia de apareamiento.

Durante esa fase refractaria, que hemos comentado anteriormente, el macho se asea y acicala el cuerpo y los genitales, mientras que la hembra, además de realizar estas mismas actividades inicia, pasado un corto lapso de tiempo, persecuciones y saltos de flecha que generalmente aceleran la recuperación gradual del macho (106).

McClintock y col. han estudiado el papel de la hembra durante la cópula en ratas noruegas salvajes y de laboratorio (R. norvegicus) y han llegado a la conclusión de que no hay diferencias en el despliegue de conducta sexual entre ambas estirpes (181). Estep y col. tampoco han encontrado diferencias entre los patrones de conducta sexual de R. norvegicus y R. rattus (94).

#### I. 6.2.- Mecanismos neuroendocrinos y conducta sexual.

La conducta sexual de los mamíferos está claramente controlada por mecanismos nerviosos y endocrinos y parece indispensable la actividad simultánea y coordinada de ambos.

Por lo que se refiere a los mecanismos endocrinos es conocida la importancia que las hormonas sexuales tienen en la inducción de dicha conducta. Así, por ejemplo, la gonadectomía anula la respuesta sexual de los machos, que puede recuperarse, sin embargo, por medio de la administración de andrógenos. Algo similar ocurre con la ovariectomía de las hembras y con la administración posterior de estrógeno y progesterona (24,295).

Estos mecanismos hormonales pasan por un período crítico en fase neonatal. En este sentido, Soulairac y Soulairac (255) mostraron como un cierto grado de estrogenización neonatal de las ratas machos conduce a la abolición en un 50% de los casos

de la conducta sexual adulta y que, además, no se produce entonces una recuperación de esa conducta con el tratamiento de andrógenos. En estos experimentos las estructuras nerviosas mostraron una falta de respuesta a las hormonas específicas lo cual parecía deberse a una actividad antiandrogénica debida a una estrogenización temprana.

En esta misma línea de trabajo Carter y col. (51) han observado que la aplicación de testosterona en la época neonatal a las hembras de hamster, puede inducir en ellas una defeminización con efectos similares a los producidos por la secrección testicular del macho.

Además Gorski y col. (115) proponen una hipótesis en la que sugieren que la capacidad hormonal para organizar el cerebro no está limitada a un período crítico perinatal, sino que bajo condiciones particulares puede ocurrir durante toda la vida.

Por otro lado, algunas lesiones del SNC (cortex frontal, área preóptica y cuerpos mamilares entre otros) también producen la extinción del comportamiento sexual, pero en estos casos ni los andrógenos ni las gonadotropinas hipofisarias son capaces de restaurar la respuesta sexual de los machos.(255).

Brookhart y Dey en 1941 encontraron que determinadas lesiones muy concretas, localizadas en el hipotálamo podrían abolir o reducir considerablemente la actividad sexual de los conejos de indias machos (41).

Por otra parte Wilson y col. estudiando los mecanismos hormonales del desarrollo sexual encontraron que, en conejos, la pituitaria anterior se diferencia aproximadamente al mismo tiempo que el comienzo de la síntesis de testosterona en el testículo fetal, sugiriendo la posibilidad de que la pituitaria pueda controlar la síntesis de testosterona, pero ellos mismos admiten que hay experiencias en contra de su hipótesis (292).

Más recientemente McGinnis y col. (185,186) han encontrado que determinadas lesiones septales realizadas en ratas hembras afectan específicamente a la lordosis, facilitándola, mientras que las mismas lesiones en machos no son suficientes para inducir conducta sexual femenina.

También se ha podido comprobar como determinadas lesiones en el área preóptica medial eliminan del todo o parcialmente la conducta sexual masculina en muchas especies, desde roedores a primates (154). De este modo se han obtenido resultados muy similares, en perros y en monos, a los ya existentes en ratas.

Por otra parte, Lumia y col. (168) realizando trabajos a nivel de lesiones en el bulbo olfativo han encontrado que la bulbectomía olfativa tiene efectos diferenciales sobre la conducta copulatoria de machos y hembras. Sus resultados están de acuerdo con la hipótesis que sostiene que son diferentes sistemas neurales los que median ambas conductas sexuales.

En general, los trabajos orientados a la búsqueda de centros nerviosos responsables de la conducta sexual se han basado en el método de implantación intrahipotalámica de hormonas gonadales o en el método de lesiones electrolíticas hipotalámicas, consiguiendo de esta forma estimular o anular el comportamiento sexual de los animales tratados (83,84,221).

Es interesante señalar que, en el caso de la rata se han encontrado diferentes circuitos neurales reflejos que parecen ser responsables de la conducta sexual masculina y femenina. En este sentido el área hipotalámica preóptica-anterior parece jugar un importante papel en el control reflejo de la conducta sexual del macho, mientras que la región del núcleo ventromedial hipotalámica realiza una función semejante para la hembra (81,222).

Por último, trabajos recientes han demostrado que los neurotransmisores son también responsables en el control de la conducta sexual. El comportamiento masculino se ha encontrado que es estimulado por la acetilcolina pero es inhibido por la serotonina (105). Por otra parte, la conducta femenina se ha visto que puede verse estimulada por la noradrenalina e inhibida por la serotonina, la dopamina y la adrenalina (63,95). En este sentido, algunos autores han sugerido que los neurotransmisores no limitan su acción a inhibir o activar temporalmente la conducta sexual, sino que pueden jugar también un importante papel en la diferenciación sexual del cerebro en los mamíferos (81,82,85).

En resumen, todos estos datos ponen de manifiesto que para obtener una respuesta sexual, la acción endocrina es necesaria, pero no suficiente: la integridad anatómica y funcional de las estructuras nerviosas, previa sensibilización hormonal, es necesaria para la expresión de la conducta sexual (114,255).

#### I. 6.3.- Manipulación Neonatal y Comportamiento Sexual en Ratas.

Las hormonas esteroides tienen una acción estimuladora sobre la diferenciación de diversos sistemas animales. Muchos trabajos han puesto de manifiesto que la exposición a las hormonas sexuales en época neonatal es fundamental para el comportamiento sexual adulto. Así, por ejemplo, en el hamster dorado machos y hembras gonadectomizados neonatalmente mostraron respuestas lordóticas en edad adulta después de un tratamiento con estradiol y progesterona (50,258).

La testosterona, el principal esteroide androgénico de los vertebrados, parece ser responsable de la iniciación de la di-



ferenciación sexual no sólo del tracto reproductivo y de las gónadas en ciertos casos, sino también de los sistemas neuroendocrinos.

La extensión y reversibilidad de la diferenciación difiere entre distintas especies de vertebrados y existe una considerable variación sobre la importancia relativa de la testosterona en sí misma o de alguno de sus metabolitos. Entre los mamíferos la diferenciación de los tractos reproductivos y del cerebro se realiza durante un período sensible muy limitado, que coincide en parte con la etapa intrauterina y los primeros momentos de la vida postnatal (80,170,182,184).

Al menos en dos especies, la rata y el hamster, los estrógenos son igual, si no son más efectivos que la testosterona. La diferenciación sexual del cerebro de rata puede estar mediada en gran parte por la acción del estradiol, el cual se forma localmente de la testosterona. Los estrógenos y los andrógenos aromatizables son agonistas efectivos en este proceso cuando se administran sistemática e intracerebralmente. Es más, el hipotálamo, el área preóptica y la amígdala de las ratas recién nacidas contienen altos niveles de actividad enzimática aromatizante. Además, antagonistas de estrógenos, tales como MER 25, se ha observado que atenúan la diferenciación sexual inducida por testosterona (183,184).

Por otra parte, Rainbow y col. (229) han encontrado que las ratas machos castradas tienen un menor número de receptores estrogénicos y de progesterona que las hembras en ciertos núcleos hipotalámicos. Esto sugiere que la relativa insensibilidad de las ratas macho a la acción de esteroides gonadales femeninos puede deberse en parte a una escasez de receptores para esos esteroides en regiones cerebrales muy concretas. Además los mismos Rainbow y col. (228) indican que el núcleo ventromedial hipotalá-

mico posee un gran número de receptores de estrógenos y progesterona, de forma que la lesión de este centro bloquea la conducta sexual de las ratas hembras y su estimulación la mejora.

Una serie de trabajos llevados a cabo por Dörner y su equipo entre otros, a lo largo de la última década, nos ha permitido conocer algunos aspectos relevantes sobre la diferenciación sexual del cerebro de la rata y su dependencia de las hormonas gonadales durante el denominado período crítico (80,82).

Se ha observado una inversión de la conducta sexual en machos y hembras de rata después de una deficiencia de andrógenos en los machos y de una sobredosis androgénica en las hembras durante el ya mencionado período de diferenciación sexual hipotalámica.

Por otra parte, según ha puesto de manifiesto Ward (282) un tratamiento de androgenización combinado pre y postnatal, da como resultado una completa masculinización de las hembras tratadas.

Finalmente cabe mencionar que otro efecto importante de la etapa crítica perinatal para la conducta sexual de la rata es que la presencia de andrógenos durante los diez primeros días de vida postnatal facilita el despliegue del comportamiento eyaculatorio en el macho adulto (267).

Por otra parte, y ello es muy significativo para nuestro estudio, algunos autores han demostrado que la corteza adrenal interviene en el control de la receptividad sexual (217). También es sabido que las adrenales contribuyen a la secreción de progesterona en la sangre a nivel periférico (217,218), y diferentes experiencias avalan la hipótesis de que dicha secreción implica un control de la receptividad sexual. Esto significa que la manipulación neonatal que, según hemos visto anteriormente, tiene una notable influencia sobre el eje hipofisario-corticoadrenal, también debe influir sobre la manifestación de la conducta

sexual a lo largo de la vida de los individuos.

En efecto, hay un gran número de experiencias que avalan esta hipótesis. En este sentido, Morton y col. (199) han demostrado que en las ratas manipuladas neonatálmente aparece una aceleración de la pubertad, acompañada de un más rápido aumento de peso. Además Morton y col. (citados por ref. 178) encontraron que la manipulación neonatal aceleraba la maduración de la glándula prostática y las vesículas seminales de las ratas machos.

Estos autores han comprobado que los regímenes de manipulación que inducen una pubertad temprana se asocian con un aumento de la respuesta corticoadrenal al estrés intenso (5,163), y la corticosterona parece inhibir la producción de testosterona como indican Broverman y col. (citados por ref. 178).

Por otra parte, Siek y Ramaley (245) también encontraron modificaciones en la pubertad de las ratas sometidas a tratamiento neonatal, aunque en sus experimentos encontraron un retraso de la misma. Tales resultados, discrepantes con los obtenidos por otros investigadores, lo explican estos autores por el hecho de haber utilizado un tratamiento de baja intensidad y una periodicidad semanal y no diaria como la empleada en las experiencias antes mencionadas.

Conviene recordar aquí los resultados obtenidos por Diamond y Yanagimachi (citados por ref. 251), quienes encontraron que la apertura vaginal, ovulación y despliegue de conducta sexual se producen a diferentes edades y no tienen una interrelación obvia en el desarrollo de la hembra de hamster. Todo ello hace pensar que ovulación y conducta sexual pueden estar disociados también en el desarrollo de la rata hembra, de modo que sea necesario considerar no sólo la aparición de la pubertad sino también si el despliegue de las diferentes pautas de conducta sexual se produce en un momento precoz o no.

Por otra parte, también convendría tener en cuenta las sugerencias de Meisel y col. (189), en el sentido de que, en algunos casos, si se produce un daño o alteración de determinadas estructuras cerebrales en etapas tempranas de la vida del individuo, el daño inducido puede tener consecuencias menos drásticas que otro similar realizado en la etapa adulta. De modo que, si la influencia sobre el SNC inmaduro es leve, el individuo puede alcanzar una recuperación funcional posterior. De ahí la necesidad de rea-lizar estudios en diferentes fases en el desarrollo de los animales.

La influencia de las glándulas adrenales en la actividad sexual también ha sido estudiada manipulando prenatalmente a los animales, es decir, sometiendo a situaciones de estrés o manipu-laciones hormonales a las madres gestantes.

Las situaciones de estrés empleadas han sido muy variadas y van desde la inmovilidad o restricción parcial de movimientos, a la aplicación de luz intensa o choque eléctrico, entre otros métodos. En esta línea de investigación merecen destacarse los trabajos de Dunlap y col. (87), quienes encontraron una reducción en la conducta copulatoria de los machos que pertenecían a camadas cuyas madres habían sido sometidas a un estímulo luminoso en los días catorce-veintiuno de gestación.

Masterpasqua y col. (178) encontraron resultados similares de reducción de la actividad copulatoria en machos cuyas madres habían sufrido una situación de estrés, sometiénolas a una prueba de evitación en una caja de dos compartimientos, a partir del quinto día de gestación. Además estos animales presentaban un aumento en la exploración en una prueba de C. A.

Dahlöf y col. (65) han señalado que las crías machos de ma-dres expuestas a condiciones de intensa iluminación (alteración física del medio ambiente) por un lado y hacinamiento (alteración

social) por otro, durante la última semana de gestación, mostraban en edad adulta una cierta feminización, medida por su facilidad para mostrar reacciones lordóticas.

Según indican Christian y Davis (citados por ref. 65) la supresión de la función reproductiva puede estar asociada con un incremento en la actividad adrenocortical incluyendo aumentos en la secreción de corticoides, andrógenos y progesterona.

Además Dahlöf y col. (66) han encontrado también que el tratamiento de hembras gestantes con hidrocortisona durante la última semana de gestación dio como resultado un acortamiento de la distancia ano-genital junto a un descenso del peso de los testículos en las crías machos mientras que no se presentaron alteraciones en las crías hembras.

Por otra parte, los trabajos de Ward desde los años 70 (282, 283) también han puesto de manifiesto que las crías machos de las hembras expuestas a agentes inductores de estrés durante la gestación, mostraban niveles anormalmente altos de respuestas lordóticas femeninas, en la edad adulta, acompañados de una reducción muy patente de las pautas eyaculatorias masculinas.

Además en los experimentos llevados a cabo por Ward, utilizando una combinación de situaciones adversas como son la inmovilidad y la luz intensa se ha puesto de manifiesto que este tratamiento de estrés está acompañado de una elevación de los niveles de corticosterona en plasma en la madre y en los fetos tanto machos como hembras (283). De forma que una alteración del medio ambiente de la madre gestante puede ser suficientemente drástica e importante como para que se vean alterados los patrones reproductivos de la siguiente generación, afectando específicamente a los machos. Dicho mecanismo ha sido interpretado como parte del "Densitoestato" en roedores, que tendería a disminuir la capacidad reproductora de la población en condiciones ambientales adversas (58).

#### I. 6.4.- Elección del Procedimiento.

Con el estudio de las pautas de conducta sexual pretendemos ampliar el trabajo que hemos comentado en los apartados anteriores. Con todo ello intentamos contribuir a mejorar el conocimiento de los posibles efectos de diferentes manipulaciones en la etapa neonatal, estableciendo un cuadro general de comportamiento en la rata. Dicho objetivo ofrece además la posibilidad de analizar las interrelaciones entre los diferentes patrones de conducta estudiados y deducir las posibles consecuencias.

Nuestro planteamiento de partida ha sido el hecho de que las manipulaciones neonatales, como ya hemos indicado varias veces anteriormente, afectan al desarrollo del eje H-A-CA, modificando de esta forma la respuesta de diferentes pautas de comportamiento. Como las glándulas adrenales parecen tener una importancia decisiva en el control de la receptividad sexual y de los correspondientes patrones de conducta, cualquier alteración fisiológica del eje adrenal inducida por una determinada situación de estrés en la etapa neonatal, puede producir modificaciones más o menos permanentes en la respuesta sexual de los individuos adultos. Además, al realizar el estudio observando la conducta sexual de un individuo tratado frente a un control podremos detectar claramente el efecto de la manipulación neonatal sobre cada sexo por separado.

Por otra parte, y como hemos venido comentando a lo largo de este apartado, la manipulación neonatal se realiza coincidiendo con el período crítico de diferenciación sexual del cerebro. De esta forma podremos estudiar la influencia de ese solapamiento sobre la respuesta sexual de ambos sexos.

Otro objetivo de este apartado del trabajo ha sido estudiar los patrones de conducta sexual en tres momentos especialmente críticos en la vida de los animales, es decir, en la fase prepu-

beral, postpuberal temprana y adulta. De este modo, podremos trazar un amplio cuadro del desarrollo de esta conducta a lo largo de la vida de nuestros animales.

Por último también hemos pretendido con este trabajo mejorar las clasificaciones de la conducta sexual existentes hasta el momento, intentando delimitar pautas relevantes e incluir otras que han sido poco valoradas hasta el momento, siguiendo una línea de trabajo que ya viene siendo habitual en nuestro laboratorio (112,133). En este sentido, el efecto producido por la manipulación neonatal deberá mostrarse de manera diferente sobre las distintas pautas de conducta que constituyen el repertorio de comportamiento sexual en la rata, lo cual ofrecerá datos de interés para aclarar la clasificación de dichas pautas desde un punto de vista fisiológico y adaptativo.

#### I. 6.4.1.- Prueba de conducta sexual.

La conducta sexual de los roedores en general ha sido estudiada tanto en machos como en hembras mediante diversos procedimientos, entre los que podemos citar:

- 1.- La realización de gonadectomías en machos y sobre todo en hembras, y la utilización posterior de estos animales como objeto inductor de conducta sexual en sus oponentes, después de recibir una terapia de reemplazamiento hormonal (93,106, 115,203).
- 2.- También se pueden utilizar hembras que presenten un estro inducido artificialmente, aunque dichas hembras no estén gonadectomizadas previamente (33,94,134).
- 3.- Otro método utilizado para medir la respuesta sexual de los machos es el empleo de hembras anestesiadas, este es el método que utiliza Landauer y col. entre otros (153).

4.- Por último cabe también citar el método de observación directa de la conducta sexual de machos y hembras intactas, previa comprobación del estado de estro natural de la hembra, mediante la técnica del frotis vaginal.

Este último ha sido el método elegido por nosotros ya que es el que menos factores de distorsión introduce a la hora de realizar una observación de la conducta sexual. De este modo sólo se manipula a la hembra para comprobar si está o no en fase de estro, permitiéndola después descansar durante un dilatado espacio de tiempo y disipar el posible estrés producido. Así, tanto el animal a estudiar como el que sirve de control sufren la menor distorsión y de este modo la respuesta sexual obtenida se aproximará lo más posible a lo que sería dicha respuesta en condiciones naturales.

Por lo que se refiere a los aparatos utilizados, son muchos y muy variados los recintos que se emplean para las pruebas de sexualidad con roedores, y de dimensiones también variadas (93,94,186).

Nosotros hemos utilizado un recinto de dimensiones no excesivamente grandes para facilitar el encuentro de los individuos y, construido con un material que puede ser fácilmente lavable para poder eliminar cualquier marca realizada por los animales durante la prueba. La descripción del aparato y el método empleado en nuestro trabajo se detallan en el apartado de Material y Métodos.



## I. 7.- PROCESOS DE APRENDIZAJE.

Antes de que pasemos a exponer en detalle los dos tipos de aprendizaje que nos proponemos estudiar en nuestro trabajo vamos a comentar algunos conceptos básicos, aquellos que están más directamente relacionados con nuestro trabajo, pero sin realizar un tratamiento exhaustivo de cada punto, que alargaría en exceso este apartado.

### I. 7.1.- Definiciones y conceptos básicos.

En primer lugar, nos encontramos con que el concepto de aprendizaje difícilmente admite una definición simple que tenga validez para explicar los muy variados sucesos que abarca. Es evidente que el aprendizaje constituye un proceso mediante el cual cambia la conducta de un organismo; pero no todo cambio comportamental es producido por el aprendizaje. Por eso, es muy importante distinguir cuidadosamente entre los cambios que son consecuencia del aprendizaje y aquellos que nos tienen relación con el mismo: fatiga, maduración y azar, fundamentalmente. Teniendo en cuenta esta dificultad, la mayoría de los autores coinciden en definir el aprendizaje como un proceso a través del cual un animal modifica su conducta de forma relativamente permanente como consecuencia de repetir una determinada respuesta ante un cierto estímulo (91,262).

La adquisición y consolidación de un comportamiento nuevo es el resultado de una mayor o menor memoria permanente, bajo la cual subyace un proceso muy complejo que puede incluir la actividad y los cambios funcionales de un gran número de células de muchas estructuras cerebrales. Teniendo en cuenta la máxima complejidad del sistema y los mecanismos implicados, diferentes autores, entre los cuales está Matthies (179), proponen que se estudien mo-

delos de aprendizaje y memoria desde un punto de vista multidisciplinario, de forma que un gran número de disciplinas y enfoques diferentes de un problema palién las limitaciones de cada método por separado.

Además, aprendizaje y memoria no pueden ser medidos directamente y ambos han de ser deducidos de las observaciones correspondientes de la conducta de los animales de estudio (142). La conducta adaptativa es claramente una parte de la respuesta de los individuos a los cambios del medio ambiente, y funciones cerebrales tales como aprendizaje y memoria pueden ser consideradas como los métodos más eficaces para adaptarse al medio ambiente (288).

#### - Estímulo y respuesta.

En la definición que hemos dado anteriormente sobre el aprendizaje aparecen los términos "estímulo" y "respuesta". Entendemos por estímulo cualquier cambio de energía en el ambiente físico que actúa sobre un organismo y desencadena una respuesta (17). La respuesta puede ser una contracción muscular o una secreción glandular que puede conectarse en forma funcional con un estímulo antecedente. Vemos pues, que existe una íntima relación entre ambos conceptos, de forma que uno se define en función del otro y viceversa.

#### - Adquisición y extinción.

En un proceso de aprendizaje el número de respuestas es inicialmente pequeño si el sujeto no lo ha realizado anteriormente, pero a medida que se establece el aprendizaje se incrementa la probabilidad de realizar respuestas correctas. A este incremento en la ejecución se le denomina adquisición o fase de adquisición y sus características dependen en gran medida de las condiciones inherentes al aprendizaje. Así, por ejemplo, una rata hambrienta realizará una determinada respuesta para obtener comida; pero sin la recompensa alimenticia que se presenta detrás de la respuesta, la

ejecución decaerá gradualmente hasta que el animal deja de responder. El fenómeno descrito recibe el nombre de fase de extinción.

- Retención y olvido.

El término "olvido" en psicología se refiere a la cantidad de información que se pierde; mientras que el término "retención" se refiere a la cantidad que se recuerda. El estudio del olvido se ha venido realizando ampliamente desde hace casi un siglo en el área del aprendizaje verbal en humanos. Por otra parte, se ha podido comprobar que las condiciones que favorecen la adquisición favorecen también la retención (17).

- Motivación.

La motivación en muchos casos se ha definido como una "variable intermediaria" que juega un papel fundamental en todo proceso de aprendizaje (17).

La mayoría de los estudiosos de la conducta animal afirman que toda la conducta es motivada, con excepción quizá de algunos reflejos. Con el fin de establecer alguna relación causal entre estímulos antecedentes y comportamiento, se ha buscado conocer lo que existe entre el estímulo y la respuesta y por esto se tiende a adoptar como esquema general el siguiente: Estímulo-M-Respuesta (E-M-R), en vez de un esquema simple Estímulo-Respuesta (E-R) (16). En el esquema propuesto, la motivación (M) conectaría el estímulo con las condiciones internas y concretas del sujeto para dar lugar a la respuesta adaptativa (R).

La expresión que acabamos de citar hace referencia al hecho de que nunca observamos la motivación sino la conducta motivada; se trata por lo tanto de un eslabón intermediario entre dos condiciones, una antecedente y otra consecuente, de las cuales deducimos su significado. Las condiciones antecedentes pueden manipularse (por ejemplo, restricción de comida) y las consecuentes pueden observarse y medirse (por ejemplo, accionar una palanca para obte

ner comida), de ambas inferimos el papel jugado por la motivación (hambre, en este caso).

De todo lo expuesto anteriormente podemos deducir que la motivación es un concepto de enorme importancia en la comprensión del comportamiento y al mismo tiempo es un concepto difícil que ha sido definido de varias maneras. Según algunos autores es un estado interno del animal que le orienta hacia el acontecimiento que está recompensado (17).

Según la teoría motivacional de Hull (16), el origen de la motivación estaría en las necesidades biológicas del individuo; el efecto de tales necesidades es poner al organismo en actividad. Además de estos impulsos basados en necesidades biológicas existen impulsos "secundarios" o aprendidos, que se fundamentan en los impulsos primarios.

Por otra parte, según la teoría multifactorial de Lashley (16), la motivación no representa una reacción a estímulos sensoriales simples, sino que es el producto final de una integración compleja de factores neurales y humorales, que contribuyen a la actividad de los mecanismos reguladores centrales. De esta forma esta teoría da importancia sobre todo a la regulación central de la motivación.

Morgan en 1943 propuso "la teoría central del impulso" en la cual decía que el estado motivacional central puede ponerse en actividad por medio de estímulos externos o internos y por cambios químicos y hormonales. Además Morgan habla de un factor motivacional hormonal que actuaría regulando el estado motivacional central.

También merecen mencionarse las teorías de K. Lorenz y N. Tinbergen, pioneros en los estudios de etología y creadores, junto con otros autores, de la escuela europea. Su teoría se centra en el concepto de "mecanismos innatos de desencadenamiento", propuesto por Lorenz en 1932. Cada mecanismo desencadenante, según esta

teoría, reacciona solamente ante determinados estímulos que se denominan "estímulos-llave" o estímulos signo, por analogía con una llave y la cerradura. Estos estímulos pueden ser de todo tipo: visuales, auditivos, térmicos, químicos, etc. Además hay una serie de factores que entran en juego actuando sobre el mecanismo desencadenante, como el tiempo, ciertos factores fisiológicos u hormonales y los efectos estimulantes e inhibitorios de otros sistemas.

Quizás también cabría citar las teorías de Stellar, Lindsley y Groosman entre otros, todas ellas desarrolladas en la década de los sesenta.

Aunque todas estas teorías han ido poco a poco ampliando y mejorando el concepto de motivación quizás no se esté todavía en condiciones de presentar un modelo que explique "toda" la conducta motivada; por ello hoy en día se tiende a establecer modelos para conductas motivadas concretas, como el hambre o la sed, con la intención de encontrar mecanismos comunes a todas ellas, de forma que pueda establecerse un esquema teórico de la motivación y sus bases biológicas que se considere satisfactorio y que responda de forma coherente a la complejidad del problema.

#### I. 7.2.- Tipos de aprendizaje.

A lo largo de este apartado nos referiremos sólo a los dos tipos de aprendizaje que nos hemos propuesto estudiar en nuestro trabajo.

##### I. 7.2.1.- Condicionamiento instrumental.

Se utiliza el término "condicionamiento" para hacer referencia a dos procedimientos de aprendizaje básicos: el condicionamiento clásico de Pavlov y el condicionamiento instrumental u operante, desarrollado fundamentalmente por la escuela conductista americana,

dentro de la cual destacan los trabajos de B. F. Skinner.

Dentro del condicionamiento instrumental podemos encontrar dos características principales:

- 1) la respuesta del animal modifica las condiciones experimentales, lo cual implica la realización de alguna actividad más o menos compleja.
- 2) el animal selecciona su respuesta mediante la asociación de determinado comportamiento con un refuerzo que constituye la solución al problema biológico planteado. El refuerzo se define por sus efectos. Skinner denominó refuerzo a aquel que al añadirse (positivo) o eliminarse (negativo) de una situación de -terminada aumenta la probabilidad de la respuesta (16).

Según la definición de refuerzo se puede hablar de dos tipos de condicionamientos: condicionamiento por recompensa y aversivo. Nos referiremos al segundo tipo, que ha sido el empleado en nuestro trabajo.

- Condicionamiento aversivo.

Este tipo de condicionamiento, también llamado "defensivo" o de "evitación", consiste básicamente en presentar un estímulo condicionado (EC) seguido de un estímulo incondicionado (EI) doloroso (choque eléctrico, por ejemplo) que puede ser evitado si el animal realiza una determinada operación (accionar una palanca, cambiar su posición corporal, desplazarse, saltar una barrera, etc). Después de un corto entrenamiento, el animal aprende la respuesta necesaria que debe dar cuando se le presenta el EC para evitar el posterior EI, de este modo la respuesta aprendida es operante, para escapar del estímulo aversivo. Sin embargo, en este proceso podemos distinguir dos etapas distintas que hacen de él un tipo de condicionamiento mixto, clásico e instrumental. Esta es la clásica interpretación de Mowrer (262): el miedo adquirido al EC se aprende según principios pavlovianos (respuesta emocional condicio

nada) y la respuesta motora según principios operantes bajo el refuerto de la reducción del miedo adquirido. Es decir, que en la primera etapa se establece un condicionamiento de las respuestas autónomas (miedo condicionado) y el animal huye del choque (el refuerto sería entonces la supresión de la descarga). En la segunda etapa el animal aprende a dar la respuesta antes del choque, con lo que sería una respuesta de evitación motivada por el miedo adquirido y mantenida y reforzada por la reducción del mismo. Esta teoría de Mowrer acerca de los dos factores de la evitación ha sido criticada por algunos autores, sobre todo en lo concerniente a su interpretación del miedo condicionado y al papel jugado por el EC en la evitación (262). También por no tener en cuenta otros factores importantes como pueden ser la existencia de reacciones innatas de defensa, que son características de cada especie y que interaccionan con determinados factores ambientales. Con todo, una versión modificada de la teoría de los dos factores de Mowrer sigue siendo ampliamente aceptada por ser la que mejor explica la complejidad del aprendizaje de evitación. Dicha versión mantiene que en el condicionamiento instrumental de evitación intervienen, entre otros factores, estados de miedo pavloviano, aunque sin especificar que la terminación del EC tenga un papel único de refuerto (262).

#### I. 7.2.2.- Aprendizaje de discriminación.

Aunque la discriminación se halla estrechamente relacionada con la generalización, constituye un área de estudio por derecho propio.

La generalización de estímulos puede definirse como el proceso por el cual los organismos realizan una respuesta correcta (adaptativa) en presencia de un estímulo nuevo, que no es el estímulo original que sirvió para la adquisición de la respuesta, pe-

ro que resulta muy similar a él.

La generalización es un principio del aprendizaje sumamente importante. Sin la capacidad de generalizar, la mayoría de los organismos serían incapaces de afrontar la variedad de demandas comportamentales que les exige su medio ambiente.

Por otra parte, la discriminación consiste en distinguir entre dos estímulos muy afines, respondiendo al estímulo concreto y original. Operativamente el entrenamiento de discriminación consiste en reforzar una respuesta dada ante un estímulo considerado correcto, pero no reforzar cualquier otra respuesta, que es considerada como error. En realidad, en muchos casos se emplean dos estímulos discriminativos, pero en este supuesto el programa de refuerzo asociado a cada uno de ellos difiere.

Una de las teorías más antiguas en torno a la discriminación es la de Hull y Spence (1930-40), dichos autores opinan que la discriminación se produce debido a que la respuesta correcta es reforzada, mientras que la incorrecta no lo es. Es decir, que el estímulo discriminativo se hace excitatorio y el estímulo error se vuelve inhibitorio.

Sin embargo, numerosos hallazgos han puesto en entredicho la postura de Hull y Spence. Uno de los más notables es la "transposición", es decir, la tendencia de los sujetos a responder a las relaciones entre estímulos (estímulo correcto y error) más que a sus características absolutas. Este efecto fue descrito por primera vez por Kinnaman en 1902 y ha sido observado muchas veces desde entonces (262).

Otro fenómeno importante en el aprendizaje de discriminación es la "disposición de aprendizaje". La técnica básica implica la solución sucesiva de problemas, eligiendo entre un estímulo correcto y error. Con un entrenamiento suficiente, los sujetos no sólo aprenden a resolver cada problema sino que lo hacen cada vez con



menos errores y más rápidamente. La velocidad a la que se desarrolla una disposición de aprendizaje está, en general, positivamente relacionada con el nivel filogenético de una especie determinada. Las disposiciones del aprendizaje han sido estudiadas en una amplia gama de animales incluyendo peces, aves, ratas, gatos, mapaches, caballos, diversos tipos de primates no-humanos e incluso en seres humanos.

Han sido muy numerosas las experiencias de discriminación llevadas a cabo en laboratorio desde comienzos de siglo. También han sido muy diversos los animales empleados (anfibios, aves, mamíferos) y las pruebas concretas a las que se les ha sometido. Son muy pocos los trabajos de discriminación realizados con anfibios. Quizás fueran los trabajos de Van Bergeijk en 1967 unos de los primeros, pero él estudió anfibios en grupo y no de forma individual. Posteriormente Schmajuk y col. (239) han analizado la capacidad de aprendizaje de los anuros de forma individual. Han utilizado un laberinto en Y, que los animales recorrían para obtener agua (éste era el refuerzo utilizado), de este modo han comprobado que el comportamiento de toma de agua en anfibios corresponde con la conducta de beber en mamíferos. Quizás los anfibios hayan estado infravalorados desde dos puntos de vista, primero para obtener una visión evolutiva y comparada del análisis del aprendizaje y segundo por el hecho de poder trabajar con animales con un SN más sencillo, de forma que resulte más fácil establecer los mecanismos neuroendocrinos que subyacen en los procesos de aprendizaje.

Por otra parte son conocidas desde antiguo las experiencias de discriminación realizadas con palomas, en las que utilizando refuerzos alimenticios se las entrenaba para discriminar entre dos estímulos que se les presentaban simultáneamente. Cabe mencionar también los recientes trabajos de Heinemann y col. (127) entrenando a las palomas a discriminar entre dos niveles de ruido

o dos colores, y valorando también la capacidad de retención del aprendizaje a lo largo del tiempo.

Sin duda alguna han sido los trabajos realizados con rata y ratón los más abundantes, casi desde el comienzo de los estudios de discriminación en animales. Los objetivos de los experimentos han sido muy variados y podemos citar por ejemplo: el simple estudio del comportamiento exploratorio (274), los intentos de establecer correlatos bioquímicos, electrofisiológicos y morfológicos en los procesos de discriminación (179), el aumentar los conocimientos sobre la acción de determinadas drogas (109, 238), el mejorar los conocimientos sobre los procesos de memoria (46) o el diseño de nuevas técnicas, con aparatos automatizados, que faciliten el estudio de la discriminación, reduciendo al mínimo factores como el manejo y el estrés de los animales entre otros (165).

#### I. 7.3.- Mecanismos neuroendocrinos y aprendizaje.

Desde hace bastantes años se viene postulando la acción de diferentes sistemas, nerviosos y endocrinos, sobre los procesos de comportamiento. Podemos decir que el eje gonadal y el adrenal han sido los más estudiados, pero sobre todo este último. En efecto, se ha estudiado de que manera, aunque siempre bajo el control de centros superiores de integración nerviosa, las hormonas de este eje pueden actuar como moderadores de la respuesta al estrés y de este modo contribuir de forma decisiva a la efectividad y estabilidad de la conducta de aprendizaje de los mamíferos y con todo ello conseguir finalmente una mayor adaptación del animal a su medio.

En este sentido Grastyán y Buzsáki (116) encontraron que para realizar cualquier tipo de aprendizaje que requiera una orientación y exploración es necesario que el sistema límbico se encuentre intacto, es decir, sin sufrir ningún daño, al menos en la pri-

mera etapa del aprendizaje.

Profundizando en este sentido Kimble y col. (148) han encontrado que los animales con lesiones en el hipocampo presentan un retraso en la adquisición del aprendizaje en un laberinto espacial. Por otra parte esos mismos animales son menos eficientes en la exploración de su medio ambiente y tienen dificultades a la hora de realizar actividades comportamentales basadas en la memoria de lugares que habían sido vistos previamente.

Dark y col. (68) también han encontrado que los animales con lesiones unilaterales en el hipotálamo presentan un retraso en la adquisición de un aprendizaje discriminativo en un laberinto en T.

También se ha encontrado que determinadas lesiones en el séptum facilitan la adquisición de un aprendizaje de evitación activa mientras que empeoran el aprendizaje en laberinto y también de evitación pasiva (207).

Finalmente los resultados obtenidos por Numan y col. (207) sugieren que tanto el séptum como el fórnix y el hipocampo pueden estar implicados en los procesos de aprendizaje, pero que pueden existir diferentes mecanismos en esas estructuras que intervengan en diferentes tipos de estrategias.

Por otra parte, Stewart y col. (257) han encontrado que los andrógenos en la etapa perinatal pueden afectar de alguna manera a la capacidad de aprendizaje, quizás por un efecto no del todo conocido sobre el SNC. De esta forma, ellos han encontrado que la exposición a altas dosis de andrógenos, en la etapa perinatal, influye directamente sobre la adquisición discriminativa en una prueba de laberinto.

Otros datos (133) apuntan a que no hay diferencias sexuales, ni debidas a gonadectomía prepuberal de los machos, en las fases de adquisición y retención de un condicionamiento instrumental con refuerzo alimenticio. Por otra parte, tanto hembras como machos

castrados prepuberalmente presentan una mejora en la adquisición y retención de un condicionamiento de evitación, respecto a los machos intactos o castrados pero sometidos a terapia de reemplazamiento hormonal.

Finalmente, comentaremos someramente algunos de los muy abundantes trabajos que desde hace varias décadas se vienen orientando a la comprensión de la influencia de las diferentes hormonas del eje adrenal sobre los distintos procesos de aprendizaje.

En concreto, Brush y Fraley (43) mantienen que existen muchas evidencias que sugieren la existencia de un circuito complejo que incluiría el hipocampo, el tálamo y el hipotálamo que puede estar implicado tanto en la regulación de la respuesta pituitario-adrenal al estrés que supone una situación de aprendizaje, como además ser mediador de los efectos concretos de la ACTH sobre los condicionamientos de evitación.

Berger y col. (34) han encontrado menores niveles de corticosterona en plasma en animales que realizan "evitaciones" respecto a los que no las realizaban, en pruebas de condicionamiento aversivo.

Hay que tener en cuenta que realizar un estudio de las hormonas del eje adrenal es realmente difícil en animales intactos, pues todo proceso de aprendizaje siempre está asociado a cierto nivel de estrés. De todos modos se ha podido comprobar que la ACTH retrasa la extinción de un condicionamiento de evitación en animales intactos y mejora el aprendizaje de evitación pasiva. Por otra parte, la corticosterona facilita la extinción de un condicionamiento de evitación y tiene un efecto dosis-dependiente. Telegdy y Kovacs (265) proponen que los efectos de la corticosterona se deben a que el tratamiento hormonal produce cambios en el metabolismo serotoninérgico a nivel del SNC.

La hipótesis de Riley y col. y de Braverman, es apoyada por muchos autores, y está basada en la idea de que la ACTH actúa aumentando el estado de excitabilidad ("arousal") o la emocionalidad, dando como resultado una mayor generalización del miedo en un condicionamiento aversivo, mientras que la corticosterona contrarresta el efecto de la ACTH recuperando los niveles de excitabilidad comportamental (230).

de Wied profundiza y completa esta idea diciendo que la ACTH y los péptidos derivados juegan un papel en la motivación, aprendizaje y memoria, mientras que la corticosterona puede facilitar la discriminación y por lo tanto la eliminación de respuestas no-relevantes (288).

Bohus y de Kloet (citados por ref. 288) han realizado una gran serie de experiencias que indican que la corticosterona puede ser un mediador fisiológico implicado en la conducta adaptativa.

Por otra parte, el grupo de Levine (70,71) postula que el eje pituitario-adrenal es necesario pero no esencial en la adquisición de un condicionamiento. De este modo, estos autores proponen que el sistema puede "reflejar", mejor que mediar directamente, los procesos de adquisición bajo condiciones de estrés.

En efecto, diferentes autores entre los que cabe citar al propio de Wied (289) han encontrado que las catecolaminas cerebrales están implicadas en funciones de memoria. Estas aminos tienen una profunda influencia sobre la consolidación y retención de aprendizajes de evitación activa y pasiva. Es posible, tal y como propone de Wied, que las hormonas neurohipofisarias modulen los procesos de memoria a través de alteraciones en el metabolismo de las aminos en ciertas áreas cerebrales. De este modo se ha comprobado que la AVP (Arg-vasopresina) aumenta el flujo de noradrenalina en el núcleo dorsal septal, en el hipocampo dorsal y el nú-

cleo parafascicular. Estas estructuras juegan un papel muy importante en los procesos comportamentales de aprendizaje y memoria (289).

Ogren y Fuxe (209) también sugieren que las neuronas noradrenérgicas cerebrales y el eje hipofisario-adrenal pueden interactuar en el control del aprendizaje de evitación activa.

Pero las experiencias de otros autores como Beatty y Rush (32) indican que ni los sistemas noradrenérgicos ni los serotoninérgicos son esenciales en los procesos de aprendizaje y memoria.

A la vista de todas las experiencias comentadas podemos decir que existen diferentes sistemas y estructuras nerviosas implicados en los procesos de adquisición y retención, tales como diferentes estructuras límbicas, el eje gonadal, el eje adrenal, los sistemas noradrenérgicos y serotoninérgicos. De manera que todos tienen una cierta influencia sobre los procesos de aprendizaje pero ninguna de ellas es totalmente decisiva. Así, es posible que exista un mecanismo de acción complejo a nivel neuroendocrino que actúe coordinando la influencia específica de cada una de las partes del sistema sobre un comportamiento tan complejo y con un significado tan adaptativo como el aprendizaje.

#### I. 7.4.- Manipulación neonatal y aprendizaje.

Es un hecho comúnmente aceptado que un determinado aprendizaje no puede ser adquirido antes de la maduración de determinadas estructuras cerebrales (204,205). Entre todas ellas cabe citar el hipocampo que está sometido a un proceso de maduración que abarca un período de tiempo perinatal en la rata. También es un hecho bien establecido que el hipocampo es una de las estructuras con un mayor número de receptores de corticosterona (192,193,194) y a su vez el eje H-A-CA está sujeto en esa etapa (período crí-

tico) de la vida del individuo para su maduración.

Por todo ello es posible que las manipulaciones físicas o sociales del medio ambiente en la etapa neonatal influyan decisivamente sobre el eje adrenal e indirectamente sobre determinadas estructuras cerebrales como el hipocampo, de forma que dichas alteraciones modifiquen la respuesta comportamental del individuo en posteriores etapas de desarrollo.

Así, Golub (111) ha puesto de manifiesto que se pueden producir cambios duraderos en determinados patrones de comportamiento debidos a la administración de corticosterona en tratamientos de corta duración y bajas dosis, durante el período de desarrollo cerebral en la rata.

Levine y col. (161) realizaron un tratamiento de manipulación neonatal en el que establecieron dos grupos, el primero recibía sólo manipulación y el segundo un pequeño choque eléctrico más la manipulación. Posteriormente realizaron con todos una prueba de evitación activa en shuttle-box y encontraron que los dos grupos sometidos a tratamiento aprendían más rápidamente que los controles.

Además, V.H. Denenberg (73) a lo largo de diferentes trabajos ha ido poniendo de manifiesto la importancia del período neonatal y la influencia de determinadas manipulaciones realizadas en esta etapa crítica sobre el comportamiento posterior del animal. Así Denenberg y Karas (citados por ref.73) han puesto de manifiesto que la manipulación ejercida durante los diez primeros días de vida tiene efectos duraderos sobre el individuo, por ejemplo, aumenta el peso corporal, la capacidad de aprendizaje y de supervivencia. Estos efectos se ven atenuados o incluso anulados si el tratamiento se realiza en los siguientes diez días de vida, es decir entre los días once y veinte de edad.

Denenberg y Kline (citados por ref. 73) encontraron que un tratamiento de shock eléctrico entre los días uno-cinco de vida postnatal producía una mejora significativa en el aprendizaje de evitación.

Finalmente, Hunt y Otis (citados por ref. 73) emplearon una gran variedad de estimulaciones en la etapa neonatal, incluyendo la manipulación, shock etc... y posteriormente realizaron una prueba que ellos denominaron de "temerosidad", consistente en medir el tiempo que los animales tardaban en aventurarse desde un recinto de salida hacia un pasillo exterior al final del cual había comida y agua ( los animales estaban privados de comida y agua 22 horas). Los resultados que obtuvieron indicaban que los animales manipulados presentaban menores tiempos de emergencia que los controles.

Thinus-Blanc (266) trabajando con hamsters han encontrado que los animales sometidos a un medio ambiente enriquecido realizan en estado adulto unas mejores discriminaciones de volúmenes que los animales sometidos a un medio ambiente empobrecido. Oliverio (211) empleando un diseño parecido de medio ambiente empobrecido y enriquecido, pero utilizando ratones, ha encontrado que aquellos que fueron sometidos a una sobreestimulación presentan una mayor rapidez en la adquisición de un condicionamiento de evitación activa y de discriminación en laberinto.

De todos estos resultados algunos autores (284) hipotetizan que los animales manipulados presentan unas mejores respuestas fisiológicas de carácter adaptativo al estrés y así pueden responder más apropiadamente que los animales no-manipulados a las demandas del medio ambiente. Así, la magnitud y proporción de la respuesta esteroídica dependen de la interacción entre la experiencia temprana y la prueba o situación concreta en la que se encuentra el individuo adulto.



### I. 7.5.- Elección del procedimiento.

Hemos elegido dos tipos diferentes de pruebas de aprendizaje: condicionamiento de evitación activa en caja de Mowrer-Miller y aprendizaje de discriminación espacial en laberinto en Y, con refuerzo alimenticio.

Los objetivos planteados inicialmente han sido varios, pero el primero podemos decir que ha sido el completar, aún más, el cuadro de comportamiento estudiado en este trabajo.

Los datos que nos ofrece la literatura sobre la influencia de la manipulación neonatal sobre el comportamiento de aprendizaje son abundantes y dispersos, al mismo tiempo que se ocupan de aspectos muy concretos del proceso de aprendizaje. Nosotros hemos pretendido estudiar los efectos de dos tipos muy diferentes de tratamientos neonatales (alteraciones físicas y alteraciones sociales) sobre dos procesos de aprendizaje también muy diferentes tanto en la etapa de adquisición como en la de retención.

Nuevamente nuestro planteamiento de partida ha sido el hecho de que las manipulaciones neonatales, como hemos reiterado anteriormente, afectan al desarrollo del eje H-A-CA. Este hecho puede influir decisivamente en la respuesta adaptativa del individuo y el aprendizaje es una de las actividades comportamentales con un mayor significado adaptativo en la rata en particular y en todos los mamíferos en general. De esta manera los animales sometidos a diferentes situaciones adversas en la etapa neonatal exhibirán una respuesta adaptativa concreta y quizás diferente de los controles ante una situación que implique un determinado grado de estrés, como son por un lado el condicionamiento de evitación con estímulo nocivo en la caja de Mowrer-Miller y por otro la neofobia en la prueba de discriminación. Nosotros nos proponemos estudiar esas posibles respuestas diferentes en ambas pruebas.

Además, el grado de estrés es diferente en la fase de adquisición y en la de retención, por ello pondremos especial interés en comprobar si existen diferencias en una o en ambas fases del aprendizaje.

También podremos comprobar si son los machos los individuos más afectados o no por el tratamiento, ya que nuestro tratamiento neonatal coincide con la etapa de diferenciación sexual del cerebro como ya hemos comentado en los apartados anteriores.

#### I. 7.5.1.- Prueba de condicionamiento aversivo.

Son muy variados los diseños experimentales empleados para realizar pruebas de condicionamiento con estímulo nocivo. En concreto las más usuales y conocidas son las pruebas de evitación activa. Estas pruebas se llevan a cabo en la caja de lanzadera o shuttle-box y en la caja de Mowrer-Miller o de dos compartimientos. Esta última ha sido la utilizada en nuestro trabajo para estudiar los procesos de condicionamiento instrumental de evitación. La base teórica de la prueba se ha expuesto anteriormente (en el apartado I. 7.2.1) y los detalles metodológicos del procedimiento y la descripción del aparato serán expuestos en el apartado de Material y Métodos.

#### I. 7.5.2.- Prueba de discriminación espacial.

Existen dos métodos básicos de discriminación, sucesiva y simultánea. En la discriminación sucesiva se presenta un estímulo al sujeto y este responde con una respuesta discriminativa o cometiendo un error, y seguidamente se presenta el segundo estímulo. De este modo no hay elección entre estímulos sino que el individuo aprende a responder en presencia del estímulo-acierto y a con-

tener la respuesta en presencia del estímulo-error.

En la discriminación simultánea se presenta al mismo tiempo el estímulo-acierto y el estímulo-error y el animal debe decidir cual es el correcto. Un ejemplo de este tipo de discriminación es un laberinto sencillo en T o en Y, y ésta es la prueba elegida por nosotros.

El hecho de no haber elegido una prueba de discriminación visual se debe a que representa cierta dificultad para la capacidad sensorial de la rata albina (126). Por ello hemos seleccionado la exploración espacial ya que además es un elemento importantísimo y decisivo en la conducta adaptativa de las ratas.

Además parece evidente que el laberinto continúa siendo hoy en día un instrumento válido para el análisis del aprendizaje, pero sobre todo para el análisis de aquellos patrones de conducta que implican la localización de lugares o la organización espacial.

Por otra parte, no ha sido nuestra intención establecer una prueba de discriminación que implique un modelo complejo de laberinto (46,238,274), ni tampoco una prueba de discriminación demasiado simple (109), sino más bien utilizar un diseño con un nivel de dificultad bajo, como los laberintos en T o en Y (68,179) que pudiera poner de manifiesto diferencias entre nuestros distintos grupos experimentales.

La descripción del aparato y los detalles metodológicos del procedimiento serán expuestos en el apartado de Material y Métodos.

## I. 8.- OBJETIVOS DEL PRESENTE TRABAJO. RESUMEN.

En los apartados anteriores hemos podido apreciar como existe una gran complejidad en el estudio de las variables fisiológicas y comportamentales que pueden verse modificadas por estimulación en la etapa neonatal. Dicha complejidad se debe en gran parte a la gran variedad de estímulos que se han utilizado, a las diferentes e interconectadas respuestas a que dan lugar y, en definitiva, a los complicados mecanismos neurofisiológicos y endocrinos que subyacen.

En la revisión bibliográfica realizada al comienzo de nuestro trabajo nos encontramos con que la mayoría de las investigaciones atendían, casi exclusivamente, a aspectos parciales de la conducta. Uno de nuestros primeros objetivos ha sido por lo tanto el trazar un cuadro lo más amplio posible de la conducta de los animales estudiados. Para ello elegimos una gama que consideramos muy representativa de las distintas pautas de conducta que aparecen en la rata: actividad espontánea, capacidad exploratoria, agresividad intraespecífica e interespecífica, comportamiento sexual y capacidad de aprendizaje. Dichos aspectos del comportamiento han sido estudiados mediante algunas de las técnicas más clásicas y comúnmente utilizadas, con el fin de poder confrontar siempre nuestros resultados con los obtenidos por otros autores que trabajan en este mismo campo.

Otro objetivo de nuestro trabajo ha sido estudiar el nivel basal de corticosterona en plasma de nuestros animales, así como valorar sus alteraciones como respuesta adaptativa al estrés, a corto y medio plazo.

Además, otra finalidad importante ha sido poner de manifiesto la influencia que el medio neonatal ejerce sobre el desarrollo posterior de la conducta, y si diferentes tipos de estimulación neonatal pueden llegar a tener efectos comportamentales semejan-

tes sobre los individuos. Hemos atendido entonces a dos modelos básicos de estimulación: por una parte los debidos a la separación temporal de la madre y, por otra, los debidos a cambios en el medio ambiente físico. Nuestra intención ha sido estudiar los efectos semejantes o diferentes que ambos tratamientos pueden producir sobre el comportamiento general de los individuos.

Hemos realizado el estudio de esa amplia gama de pautas comportamentales a lo largo del período de desarrollo de nuestros animales, abarcando en términos generales las etapas más importantes y críticas, en concreto los períodos prepuberal, postpuberal y adulto.

Por último, debemos mencionar el hecho de que cada día parece más evidente que la estimulación neonatal debe afectar al desarrollo de otros procesos endocrinos diferentes del ya mencionado eje H-A-CA y, como muy acertadamente ha señalado Gray (118), en concreto, el eje gonadal debe verse afectado de alguna manera. Por esta razón, hemos prestado especial atención a las posibles diferencias sexuales entre los animales, tanto a nivel endocrino como comportamental.

Con todo ello, pensamos que se puede contribuir eficazmente en el estudio de la influencia del medio ambiente neonatal sobre el desarrollo de los patrones comportamentales del individuo adulto, pero aún nos encontraríamos más satisfechos si este trabajo presentara nuevos interrogantes que estimularan a estudiantes y estudiosos en general a aportar sus esfuerzos para mejorar nuestros conocimientos en este área.

## II. MATERIAL Y METODOS

## II. 1.- ANIMALES.

Se han utilizado en este trabajo un total de 2.023 ratas (Rattus norvegicus, var. albina) machos y hembras de la cepa Sprague-Dawley.

Existen una serie de motivos que nos han llevado a utilizar a la rata como animal de experimentación. En primer lugar, al ser la rata la especie en la que se efectúa quizás el mayor número de trabajos sobre comportamiento animal, es posible disponer de abundantes referencias bibliográficas, lo cual nos permite contrastar nuestros resultados con los obtenidos recientemente por otros autores que investigan en aspectos relacionados con nuestro trabajo. Por otra parte, su pequeño tamaño posibilita el que puedan ser almacenados en espacios relativamente reducidos; es además un animal fácil de criar y no requiere ningún tipo de atención especial. Por otra parte, la rata presenta una gran capacidad de exploración espontánea, hecho éste de gran importancia a la hora de realizar pruebas de aprendizaje por ejemplo. Otra ventaja no desdeñable es que sus períodos de gestación y cría son relativamente cortos (veintiuno-veintitrés días cada uno) lo cual permite disponer de sucesivas generaciones de individuos con relativa facilidad. Por último, puesto que la rata de laboratorio es un animal sometido a un riguroso control de selección, significa que trabajamos con líneas puras, obviando así problemas de índole genética que acarrearían una dispersión de datos.

Todos los animales utilizados han sido criados en camadas con la sola presencia de la madre. Por otra parte, todas las madres eran hembras primíparas y parían solas en el recinto que iba a ser su jaula-nido durante todo el período de cría. Inmediatamente después del nacimiento todas las camadas fueron igualadas a  $10 \pm 1$  cría, procurándose un número igual de machos y hembras en cada una, evitando así las posibles repercusiones comportamentales en

la edad adulta que puede ocasionar un distinto tamaño de camada durante la época de cría, o una gran desproporción de sexos a lo largo de dicho período. También de este modo se evitan las variaciones individuales en cuanto al peso, que pueden aparecer por diferentes situaciones nutricionales durante la lactancia. Los animales fueron destetados a los veintitrés días de edad y alojados en grupos de  $5 \pm 1$  individuos de igual sexo y edad en jaulas de plástico transparente, fabricadas por la casa Panlab, cuyas dimensiones son 48 x 24 x 15 cm. En el fondo de cada jaula fue colocada una capa de viruta de madera, que se renovaba una vez por semana. Todos los animales recibieron comida y bebida "ad libitum", salvo los que fueron sometidos a un condicionamiento alimenticio, que recibieron temporalmente una dieta restringida, como luego detallaremos en el apartado correspondiente. La comida estaba constituida por pienso compuesto Panlab. Todos nuestros animales fueron marcados antes de ser sometidos a las diferentes pruebas con el fin de poderlos identificar posteriormente. Para ello se utilizó una solución de ácido pícrico, aplicándolo de acuerdo con un código previamente establecido.

Los grupos experimentales formados y sus tratamientos respectivos serán detallados más adelante. En la Tabla I se detalla el número de animales empleados para cada prueba, su sexo y el grupo experimental al que pertenecían.



PRUEBA	nº TOTAL DE ANIMALES	RSC		SSC		SC		C	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Actímetro	426	53	47	63	41	52	42	60	68
C. Abierto	131	15	15	16	16	11	14	22	22
A. Intraespecífica	178	20	20	20	20	20	20	28	30
A. Interespecífica	170	20	20	21	22	22	22	22	21
Sexualidad	279	15	15	27	24	11	14	22	21
Ap. Laberinto	81	11	10	10	10	9	10	11	10
Ap. Mowrer-Miller	98	10	10	11	11	11	11	19	15
Adrenalectomía	178	21	16	28	18	16	17	29	33
V. Hormonal	277	37	35	33	33	29	35	37	38
C. Peso Neonatal	105 (10 camadas)								
Tanteos Previos	100								
		202	188	229	195	181	185	250	258
TOTAL	2023								

TABLA I. Distribución del nº de animales de cada sexo utilizados en los diferentes grupos estudiados en este trabajo. RSC: animales sometidos a alteraciones físicas del medio ambiente, dos horas al día durante todo el período de cría. SSC: animales sometidos a una separación de la madre durante cuatro horas al día a lo largo del período de lactación. SC: animales sometidos a una separación de la madre durante dos horas al día en la fase de lactación. C: grupo control.

## II. 2.- CONDICIONES DE TRABAJO.

Una serie de factores han sido controlados tanto en el estabulario como en las salas de experimentación.

- Los animales vivieron en una habitación que se mantuvo a una temperatura de  $22 \pm 2^{\circ}$  C.
- El estabulario posee un mecanismo de luz automático que proporciona un fotoperíodo de luz/oscuridad de 12 h/12 h. Siendo la fase de luz roja (oscuridad para la rata) de 8-20 horas y la de luz blanca de 20-8 horas, lo cual nos permitía trabajar durante la fase más activa de los animales.
- En el momento de ser transportados desde sus respectivas jaulas a un aparato determinado, localizado en una de las salas de experimentación, se utilizaron jaulas individuales de 24 x 24 x 15cm fabricadas por la casa Panlab, desprovistas de comida y bebida.
- A fin de mantener constante el nivel de ruidos en las salas de experimentación, éstas se insonorizaban del exterior y carecían de ventanas. En algunos casos, la sala de experimentación, si era necesario, tenía doble puerta y material aislante en sus paredes. Además, mientras duraba el experimento funcionaba una fuente de ruido monótono para enmascarar posibles filtraciones del exterior que pudieran desviar la atención del animal. La iluminación se controló según las peculiaridades de cada prueba que comentaremos en su momento aunque, en cualquier caso, siempre se mantuvo un fondo de luz roja (no visible para la rata). También en esta habitación la temperatura se mantuvo alrededor de los  $22^{\circ}$  C.
- El horario de trabajo fue el mismo para todas las pruebas y para todos los grupos experimentales, como más adelante detallaremos.

## II. 3.- APARATOS.

En nuestro trabajo hemos utilizado una serie de aparatos con el fin de medir una extensa variedad de parámetros de conducta en la rata: la actividad motora espontánea, la capacidad de exploración, la agresividad intra e interespecífica, la sexualidad, la velocidad de aprendizaje en pruebas de discriminación espacial en laberinto con refuerzo alimenticio y en pruebas de evitación activa. Vamos a exponer de una forma breve las características técnicas de los aparatos utilizados.

### II. 3.1.- Actímetro.

Nuestro aparato es el modelo PB-1099 de la casa Panlab. Consta de dos unidades sensoras de 35 x 35 cm de superficie y está provisto de un contador automático, de un selector de tiempos y otro de sensibilidad, así como de un registrador, todos ellos también automáticos.

### II. 3.2.- Campo Abierto.

Hemos utilizado un aparato que se ajusta al modelo diseñado por Broadhurst (39). Consiste en un cilindro de 75 cm de diámetro y 50 cm de altura, descubierto e iluminado por un foco de 60 W situado a 80 cm del suelo y localizado sobre el punto central del cilindro. Dos círculos concéntricos de 22,5 cm y 37,5 cm de diámetro, surcados por una serie de radios, dividen el suelo del aparato en 19 zonas de aproximadamente igual superficie, que quedan de esta forma uniformemente iluminadas.

### II. 3.3.- Jaula de lucha.

Utilizamos un aparato formado por una caja de material plástico transparente de 20 x 20 x 40 cm. El suelo del aparato puede ser electrificado y está formado por una serie de varillas metálicas paralelas de 4 mm de diámetro y separadas entre sí por una distancia de 1,3 cm. Dicho suelo está conectado a una fuente de alimentación de corriente continua, modelo Power-Supply EO-300-0-1 de la casa Delta Elektronika. En esta prueba el foco luminoso estaba colocado a 30 cm de altura sobre el suelo de la jaula y a 10 cm de una de las caras laterales, con lo que el recinto experimental quedaba totalmente iluminado.

### II. 3.4.- Jaula para prueba muricida.

Utilizamos una jaula individual de material plástico transparente, fabricada por la casa Panlab, de dimensiones 24 x 24 x 15 cm, con una capa de viruta de madera en el fondo. A los animales se les dio alimento y comida "ad libitum", la comida estaba constituida por pienso compuesto Panlab.

El fotoperíodo luz/oscuridad que poseía la sala de experimentación donde se realizaban estas pruebas estaba sincronizado con el de estabulario donde vivían los animales.

### II. 3.5.- Recinto experimental para prueba de sexualidad.

Para las pruebas de conducta sexual hemos utilizado el aparato del campo abierto, anteriormente descrito, pero iluminado con luz roja (no visible para la rata), a fin de evitar el efecto de fotofobia en los animales. Dicha iluminación consistía en una bombilla roja de 60 W.

## II. 3.6.- Laberinto en Y.

El aparato utilizado ha sido un laberinto de paredes de madera y cuyo techo era transparente, de dimensiones totales 104 x 67 x 16 cm, más una pequeña caja denominada "de salida" de 24 x 24 x 16 cm, separada del resto del recinto por una trampilla. En el interior del recinto unos elementos superponibles, contruidos en madera, delimitaban un pasillo central que se prolongaba en dos ramas laterales, constituyendo el característico diseño en Y. Podemos distinguir al menos, tres zonas diferentes: la primera es un pasillo largo que tiene una longitud de 56 cm y una anchura de 10 cm, éste se continúa en un pasillo transversal que mide 60 x 10 cm y que a su vez se prolonga en dos brazos laterales de 34 x 10 cm, acabando ambos en una pared de madera.

El suelo de todo el recinto es de madera con una superficie plastificada para facilitar la limpieza que se realizaba entre prueba y prueba.

Antes de comenzar los ensayos se colocaba una pastilla alimenticia en el fondo del brazo derecho del laberinto y siempre en el mismo sitio. Las pastillas fueron suministradas por P. J. Noyes Co. y tienen un peso aproximado de 55 mg.

Al comenzar cada ensayo se levantaba la trampilla de la caja de salida que permitía el libre acceso del animal desde dicho recinto, en donde se encontraba, al laberinto propiamente dicho, en concreto al pasillo largo.

La prueba se realizó con luz roja.

## II. 3.7.- Caja de Mowrer-Miller.

Se trata de una caja de material plástico transparente, de 40 x 23 x 30 cm. El suelo está formado por una serie de varillas paralelas electrificables, conectadas a una fuente de alimentación de corriente continua, modelo Power-Supply EO-300-O-1 de la casa Delta Elektronika. Una barrera metálica de 8 cm de alto, también electrificable, divide la caja en dos compartimientos iguales, cada uno de ellos con una fuente luminosa y suelo electrificable por separado. La fuente luminosa estaba constituida por una bombilla de 40 W, situada a 25 cm del suelo en la pared lateral de cada compartimiento.

## II. 4.- TECNICAS EXPERIMENTALES.

### II. 4.1.- Tratamientos neonatales.

Se comenzaron a realizar el primer día de vida, pesando e igualando el número de animales de las respectivas camadas, que se ajustaran a  $10 \pm 1$  individuos. El segundo día comenzó el tratamiento propiamente dicho, que se prolongó hasta el día veintitrés, fecha del destete.

A continuación pasamos a describir los diferentes tipos de manipulaciones neonatales empleadas y que dieron lugar a los grupos experimentales siguientes:

#### II. 4.1.1.- Grupo experimental RSC.

Todos los animales que formaron parte de este grupo, 202 machos y 188 hembras se vieron sometidos a una separación de la madre durante dos horas al día a lo largo de todo el período de cría.

Durante el tiempo de separación sufrieron alteraciones en su medio ambiente físico, las cuales describiremos a continuación en la misma secuencia temporal en que se efectuaban y haciendo constar que los tratamientos los recibían los animales siempre por ca ma das y después de ser sometidos al pesaje diario también por ca ma das.

#### 1) Estímulos eléctricos.

A los animales se les colocaba en unas parrillas electrifica bles, situándose en cada parrilla a los animales de una sola ca ma da, inicialmente sin contacto físico entre ellos.

Recibían durante tres minutos, a intervalos de diez segundos, descargas de 10 v la primera semana de vida, 20 v en la segunda y 30 v en la tercera. Este incremento se realizó atendiendo a la apa ri ci ón del pelaje, el fortalecimiento de la piel y el aumento de peso, así como otros datos obtenidos en trabajos anteriores que se realizaron en nuestro laboratorio (112).

Esta estimulación se realizó en condiciones de insonoridad y luz roja, al finalizar los animales eran depositados durante diez minutos en un recinto de 24 x 24 x 15 cm, con una capa de viruta de madera en el suelo y colocados sobre una almohadilla térmica con una temperatura constante, de manera que se consiguiera una situación similar a la del nido (temperatura aproximada de  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ).

#### 2) Alteraciones térmicas del medio.

Transcurridos los diez minutos de descanso, se les colocaba por camadas en unos compartimientos de 30 x 30 x 20 cm y se les sometía a una temperatura de  $40^{\circ}\text{C}$  durante veinte minutos (colocándolos en el interior de una estufa preparada al efecto).

Durante esta fase del tratamiento se mantuvieron las condicio nes de insonoridad y luz roja.

Después de los citados veinte minutos se les pasaba a un recinto frigorífico donde permanecían otros veinte minutos a una temperatura de 5° C durante la primera semana de vida, 0° C durante la segunda y - 5° C durante la tercera. Este descenso progresivo de la temperatura se realizó atendiendo a los mismos criterios expresados anteriormente en el apartado de estímulos eléctricos.

A continuación los animales permanecían durante quince minutos en condiciones similares a las de su nido, utilizándose el mismo procedimiento que el intervalo de descanso anterior.

### 3) Alteraciones luminosas del medio.

A continuación se les colocaba bajo la acción de un foco luminoso intenso (una bombilla de 60 W colocada a 20 cm de altura aproximadamente) durante treinta minutos, realizando un apagón de un minuto a intervalos de cuatro minutos de iluminación continua.

Finalmente se les dejaba descansar aproximadamente diez minutos en las mismas condiciones que los descansos anteriores. Transcurrido ese tiempo se les transportaba en las cajas donde se encontraban hasta el estabulario donde eran devueltos al nido con su madre, después de lo cual se realizaban observaciones cada quince minutos durante la primera hora, para comprobar que la reacción de la madre al recibir nuevamente a sus crías era perfectamente normal. De este modo pudo comprobarse que en ningún caso se dio una actitud maternal de rechazo o indiferencia hacia las crías recién tratadas.

Durante toda esta serie de operaciones la madre permanecía en su jaula-nido sin que fuera molestada y sin sufrir la más mínima alteración de su medio.

El tratamiento total tenía una duración aproximada de dos horas, siendo el horario de trabajo establecido de diez a doce horas de la mañana. Diariamente, antes de comenzar las manipulacio-



nes, se pesaban todas las camadas que componían los diferentes grupos experimentales. El control diario de peso permitía observar la influencia del tratamiento neonatal sobre el desarrollo corporal de los animales, pudiéndose así comprobar, por otra parte, que las alteraciones registradas no eran de una magnitud que pudieran poner en peligro la vida de los individuos tratados.

#### II. 4.1.2.- Grupo experimental SSC.

Todos los animales que formaron parte de este grupo, 229 machos y 195 hembras, recibieron un tratamiento consistente en la separación de las crías de sus respectivas madres durante cuatro horas al día, a lo largo de todo el período de lactación.

Después de realizar el pesaje de las camadas se las alojaba en unas cajas de 24 x 24 x 15 cm con el suelo cubierto con una capa de viruta y con comida y bebida " ad libitum ". Las cajas eran de material plástico transparente exactamente iguales a las cajas-nido y permanecían todo el tiempo en el estabulario pero con una colocación tal, que impedía el contacto visual y olfativo entre madre y camada. De esta manera, las condiciones físicas en las que se mantenían eran aproximadamente iguales a las del nido ( luz temperatura, soporte material...) pero sin la madre, la cual permanecía durante todo el período de tiempo del tratamiento en su caja-nido sin ninguna perturbación exterior.

El horario establecido para el tratamiento fue de diez de la mañana a dos de la tarde.

Una vez transcurrido el tiempo establecido se devolvían las camadas a sus respectivas jaulas-nido con su madre y se realizaban observaciones cada quince minutos durante la primera hora para comprobar que la reacción de la madre al recibir nuevamente a sus crías era absolutamente normal. En ningún caso se observaron actiu

tudes de rechazo o indiferencia hacia las crías.

#### II. 4.1.3.- Grupo experimental SC.

Este grupo ha estado constituido por 181 machos y 185 hembras que fueron sometidos a un tratamiento que consistió en la separación de las crías de sus respectivas madres durante dos horas al día durante todo el período de lactación.

El proceso seguido con este grupo experimental fue exactamente igual al descrito para el tratamiento SSC, excepto que en este caso el tiempo de separación de la madre fue de dos horas y el horario de trabajo establecido fue de doce a dos de la tarde. Una vez terminado el tratamiento neonatal SC, también se realizaron en este caso cuatro observaciones, una cada quince minutos durante la primera hora, para comprobar la respuesta materna al recibir a sus crías, que siempre fue de aceptación inmediata, no registrándose nunca actitudes de rechazo o indiferencia maternal.

#### II. 4.1.4.- Grupo control.

Estuvo formado por 250 machos y 258 hembras.

Los animales incluidos en este grupo se conservaron intactos, es decir, las crías permanecieron con sus madres durante todo el período de lactación, sin sufrir ninguna perturbación en su medio ambiente físico y social ni ninguna manipulación experimental, sirviendo de este modo como controles para las pruebas de comportamiento posteriores.

#### II. 4.1.5.- Grupo control de peso neonatal.

Constituido por 105 animales entre machos y hembras.

Para que el grupo control no estuviera sometido ni siquiera a la manipulación que se lleva a cabo al realizar diariamente el pesaje de las camadas, se utilizó para este fin otro grupo control, al que denominamos control de peso neonatal. Sólo se utilizó durante los veintitrés días de lactación, es decir, hasta el destete. Posteriormente este grupo no realizó ninguna de las pruebas experimentales de comportamiento que se llevaron a cabo con los demás grupos.

#### II. 4.2.- Control de peso.

##### II. 4.2.1.- Etapa neonatal.

Todas las camadas de todos los grupos experimentales fueron pesadas diariamente desde el día uno al veintitrés de vida (durante toda la lactación) con el fin de observar, como ya se ha señalado, cualquier posible alteración en el peso corporal que pudiera ser imputable al tratamiento neonatal, controlando también de este modo que dichos tratamientos no pusieran nunca en peligro la vida de nuestros animales.

Para obtener los datos de pesos del grupo control se utilizó un grupo adicional llamado control de peso neonatal, que ya hemos descrito en el apartado anterior.

#### II. 4.2.2.- Etapa posterior al destete.

A partir de la edad de treinta días los animales fueron pesados individualmente cada diez días a lo largo de todo su desarrollo. Dicho pesaje se realizó con el fin de observar cualquier posible alteración en el peso corporal, a lo largo del desarrollo, que pudiera ser imputable al tratamiento neonatal.

Los animales también fueron pesados antes de formar parejas para la lucha intraespecífica, según se detalla en el apartado correspondiente.

Por último todos los animales sometidos a pruebas de discriminación en laberinto con refuerzo alimenticio fueron pesados diariamente durante el tiempo que duró el entrenamiento y en la fase anterior de preparación, según detallaremos más adelante.

#### II. 4.3.- Actímetro.

En una serie de ensayos previos con grupos de animales similares en edad y peso y de ambos sexos, pudimos comprobar que la actividad registrada por nuestro aparato no se veía afectada significativamente por efecto intrínseco de las unidades sensoras, las cuales, podían intercombinarse sin influir en los registros que eran, por lo tanto, perfectamente reproducibles. La actividad tampoco se alteraba de un día a otro para un mismo animal si se controlaba la hora de la prueba y el ritmo circadiano a que el animal estaba sometido. Una vez comprobada la buena reproducibilidad de los resultados y la escasa dispersión entre las unidades sensoras de nuestro aparato, realizamos el diseño experimental para nuestras pruebas.

Se fijó la duración de cada prueba en cuatro horas, tomándose las cuentas de actividad cada sesenta minutos, con lo cual po-

díamos medir el efecto de neofobia y la posterior evolución a lo largo del tiempo de la prueba de la actividad de nuestros animales.

La prueba de actímetro-I, realizada a los veintitrés días de edad de los animales, se decidió que tuviera una duración de dos horas, y que se realizara en grupos de cinco individuos, debido a que nuestra intención era obtener un registro de la actividad general basal a esa edad, por esta razón intentamos reducir al máximo todos aquellos factores adversos que pudieran inducir estrés ( duración de la prueba, ausencia de la madre, separación del resto de la camada...).

En todas las pruebas de actímetro realizadas, los animales se colocaban en jaulas de 24 x 24 x 15 cm provistas de comida y bebida " ad libitum ", las cuales eran situadas sobre las unidades sensoras, graduándose la sensibilidad del aparato en la posición seis sobre una escala que va de uno a siete. Esto supone un alto nivel de sensibilidad en el aparato, pero excluye del registro pequeños movimientos, como ligeros cambios posturales, que no entrañan desplazamientos y que, por lo tanto, carecen de relevancia en el total de actividad desarrollada por el animal.

La prueba se realizó con luz roja, a fin de evitar la reacción fotofóbica, inductora de estrés, que significa la luz blanca para la rata, y para no variar el ritmo circadiano a que estaba sometido el animal.

Las pruebas de actímetro se realizaron a los 23, 40, 80 y 120 días de edad.

#### II. 4.4.- Actividad en Campo Abierto.

Todos los animales fueron sometidos individualmente a esta prueba en sesiones de tres minutos de duración durante cuatro días consecutivos a los 40, 80 y 120 días de edad. Las pruebas se realizaron siempre entre las diez de la mañana y las tres de la tarde a fin de evitar, como ya se ha indicado, las posibles influencias que sobre el comportamiento ejercen determinados ritmos circadianos hormonales.

A lo largo de la prueba se midieron las siguientes variables: deambulaci3n externa (D.E.), deambulaci3n interna (D.I.), postura erguida (P.E.), atusamiento rostral (A.R.), tiempo de inmovilidad (T.I.), defecaci3n (Def.) y micci3n (M). Los criterios empleados para medir dichas magnitudes han sido:

- Tanto para la D.E. como para la D.I. se ha contabilizado el n3mero total de zonas que cruzaba el animal durante la prueba, del c3rculo externo y de los dos c3rculos internos respectivamente. En la D.E. consider3bamos que un animal pasaba de un 3rea a otra cuando atravesaba totalmente la l3nea de separaci3n entre ambas. Para la D.I. hemos estimado que la rata exploraba un 3rea nueva cuando atravesaba al menos con tres patas la l3nea divisoria.
- El total de P.E. se obtuvo contando el n3mero de veces que el animal se levantaba sobre sus patas traseras. Se incluyeron en la medici3n, tanto las veces que el animal se incorporaba en la zona perif3rica como cuando lo hac3a en la zona central. Asimismo, tambi3n se consider3 v3lido cuando se levantaba apoy3ndose en la pared del recinto.
- El n3mero total de atusamientos rostrales realizados a lo largo de la prueba se obtuvo contando el n3mero de veces que el animal realizaba esta actividad.

- En cuanto al tiempo de inmovilidad, se ha considerado que un animal permanecía inmóvil cuando se paraba y cesaba totalmente cualquier tipo de actividad durante al menos cinco segundos. Anotándose, cada vez que este fenómeno se producía, el tiempo total en segundos que permanecía inmovil y sumando finalmente cada uno de los tiempos parciales observados en cada prueba.
- El número de bolas fecales se obtuvo contando el número de ellas que el animal dejaba en el suelo del aparato después de cada sesión.
- La micción se contabilizó anotando las marcas de orina que se encontraban en el suelo del aparato al finalizar la prueba.

La finalidad primordial de la prueba ha sido, sin duda, el estudio de las diferencias en actividad espontánea y capacidad exploratoria de los diferentes grupos experimentales formados en este trabajo y que se detallaron anteriormente, así como obtener in directamente un índice sobre la respuesta emotiva de nuestros animales ante un medio adverso que implica una situación de estrés de tipo medio-bajo.

#### II. 4.5.- Agresión intraespecífica inducida por choque eléctrico.

Esta prueba de agresión, se realizó siempre entre parejas de individuos del mismo sexo. Todas las parejas se formaron siempre con arreglo a los siguientes criterios básicos:

- 1) Se utilizaron parejas que siempre pertenecían al mismo grupo experimental, pero que vivían en jaulas distintas para evitar el problema que se presenta cuando luchan dos individuos que han convivido juntos largo tiempo y que, por lo tanto, han es tablecido ya entre ellos una jerarquización social.

2) Se ha tenido muy en cuenta el peso de los animales que constituían cada pareja, ya que los individuos más pesados tienden a ser superiores en esta prueba de agresividad, debido a que su mayor volumen corporal les favorece (299). Se intentó por tanto que en cada pareja existiera el menor desequilibrio posible en peso; para ello se formaron dichas parejas eligiendo animales que ocupaban en peso la misma posición relativa dentro de sus respectivas jaulas. En ningún caso, la diferencia en peso entre los individuos que constituían una pareja para la lucha podía exceder del 5% del peso del animal más ligero.

Una vez formadas las parejas cada una realizó la prueba dos días consecutivos en sesiones de cinco minutos de duración por día. Elegimos para esta prueba una duración de dos días debido a que, en trabajos de tanteo previos observamos una cierta habituación al choque en los animales, unida a una cierta capacidad de evitación (colocando sus patas sobre la cola etc...). Ambas alteraciones eran, sin embargo, despreciables en los dos primeros días de la prueba. Además dos días nos proporcionaban una cantidad de información suficiente sin necesidad de producir un castigo excesivo en los animales.

En pruebas experimentales previas, que se hicieron con animales de similar edad y peso y de ambos sexos, pudimos establecer el umbral de sensibilidad al choque eléctrico, que fijamos alrededor de 70 v para la prueba a los 80 días y 80 v para la prueba a los 120 días en el caso de los machos y de 60 v y 70 v respectivamente en el caso de las hembras, con una intensidad, en todos los casos, de 20 mA. Consideramos que los animales eran sensibles al choque cuando respondían a éste con alguna de las reacciones siguientes: vocalización, estremecimiento general del cuerpo o separación brusca de una o más patas del suelo electrificado, lle



gando a veces a producirse saltos.

A lo largo de la prueba se aplicaba un choque cada diez segundos, durante los cinco minutos de duración de la sesión, con lo cual, cada pareja recibía treinta choques.

Las pruebas tuvieron lugar, para todos los animales, los días 80 y 120 de vida.

En estas pruebas de agresión intraespecífica inducida por choque eléctrico hemos eliminado del diseño experimental inicial la prueba correspondiente a la edad de 40 días (etapa prepuberal) porque en trabajos previos realizados en este laboratorio no se han encontrado diferencias ni entre grupos experimentales sometidos a manipulación neonatal (112) ni entre sexos (133). Todos los individuos a esta edad desplegaban "conducta de juego" y no comportamiento propiamente agresivo, de este modo esta prueba de lucha no aportaría datos nuevos de interés y sí sumaría un estrés innecesario a los animales.

Para medir la reacción agresiva de cada individuo frente a su pareja se han contabilizado una serie de posturas estereotipadas que constituyen la manifestación externa de esa actitud agresiva de la rata. Para definir dichas posturas agresivas hemos atendido a los criterios de Eibl-Eibesfeldt (90), Barnett (25), Drews y Wulczyn (86), Eichelman (92) y de Castro y Marrone (53).

Hemos considerado los siguientes tipos de posturas:

Tipo A: posturas que no requieren contacto físico.

- Amenaza: acercamiento al adversario con el lomo arqueado y las patas extendidas, mientras se le ofrece el flanco. En muchas ocasiones una de las patas delanteras se encoge mientras la otra sigue extendida y apoyada en el suelo.
- Enfrentamiento: los dos animales, uno frente al otro, se levantan sobre las patas traseras mientras las delanteras pueden estar extendidas o no pero en

cualquier caso sin llegar al contacto físico.

Tipo B: posturas agresivas que requieren contacto físico.

- Boxeo: enfrentamiento de ambos animales, en posición erguida, golpeándose frecuentemente con las patas delanteras.
- Ataque: salto rápido hacia el adversario arrinconándole o haciéndole caer.
- Rechazo: un animal intenta repeler un ataque del adversario dándole empujones con las patas traseras.
- Lucha: cuando ambos contendientes caen enzarzados al suelo, intercambiando golpes.

Tipo C: posturas de contacto físico, de dudoso significado agresivo tales como el hecho de abrazarse mutuamente.

Tipo D: posturas de dominancia / sumisión (posiblemente de cierta significación jerárquica).

También se anotaron: el número de vocalizaciones (V) y el número de bolas fecales expulsadas durante la prueba (Def.), variables importantes por su posible significación emotiva.

#### II. 4.6.- Agresión interespecífica: prueba muricida.

Se colocaban en la jaula para prueba muricida, anteriormente descrita, una rata y un ratón albino (Mus musculus) durante veinticuatro horas, anotándose la conducta agresiva de la rata dirigida contra el ratón. En los casos en que la agresión produce la muerte del ratón se dice que la rata es muricida.

Se eligieron ratones de peso aproximadamente constante para todas las pruebas, entre 30-35 gr . Los ratones eran machos y hembras adultos de la cepa IOPS OF1 y habían sido criados en nuestro laboratorio desde su nacimiento. A partir del destete se separaron por sexos, alojándolos en cajas de material plástico transparente de 48 x 24 x 15 cm que tenían una capa de viruta en el fondo, que se renovaba semanalmente y disponían de comida y bebida " ad libitum ". En el estabulario se encontraban sometidos a un ritmo circadiano de luz/oscuridad de 12 h/ 12 h ( 8,00-20,00, luz roja y 20,00-8,00, luz blanca), idéntico al de las ratas sometidas a esta prueba muricida.

Ninguno de los ratones utilizados tenía experiencia previa en pruebas de agresión interespecífica y cada uno de ellos fue utilizado una sola vez.

La prueba se realizó tres veces en la vida de los animales, a los 40, 80 y 120 días de edad.

#### II. 4.7.- Prueba de conducta sexual.

En esta prueba se midió la respuesta sexual de cada individuo frente a su pareja, para lo cual se contabilizaron una serie de posturas estereotipadas que podemos interpretar como la manifestación externa de dicha actividad sexual.

Además del comportamiento específicamente sexual, también hemos anotado posturas de tipo agresivo que son un complemento importante para entender la interacción que se produce en individuos al estar motivados sexualmente. Antes de realizar cada prueba, mediante frotis vaginal se comprobaba que las hembras se encontraban en fase de estro, es decir, que eran receptivas sexualmente. Después de realizar dicho frotis se esperaba entre cuatro-cinco horas antes de empezar la prueba de conducta sexual para que la hembra se recuperara del posible estrés de la manipulación.

Las pruebas se realizaron a los 40, 80 y 120 días de edad de los animales.

Cada prueba comenzaba situando a los animales en dos puntos diametralmente opuestos del recinto experimental, anotándose el tiempo que transcurría hasta que entraban en contacto físico (tiempo de emergencia). A partir de este momento la prueba tenía una duración de diez minutos.

Las parejas que se formaron para la prueba siempre fueron heterogéneas, es decir, que siempre se colocaban juntos un animal perteneciente a un grupo experimental (macho o hembra) y un control (macho o hembra). Los machos controles, para esta prueba, siempre eran adultos y con experiencia sexual previa y las hembras controles utilizadas para esta prueba eran adultas y se encontraban en estro.

En la definición de las posturas sexuales hemos seguido los criterios expuestos por McClintock y Adler (181), Diakow y Dewsbury (79), Madlafousêk y Hliňak (171,172) y Hetta y Meyerson (135).

En resumen hemos considerado las posturas siguientes:

Tipo A: actitudes sexuales no-ccpulatorias.

A1) Olfateos y lamidas.

- Olfateo ano-genital (O.A.G.): exploración olfativa de la región ano-genital. Aunque de clara significación olfativa, todos los autores que la citan le

adjudican también una gran importancia en la interacción sexual. De hecho cuando una hembra en celo y un macho contactan existe generalmente un corto período de investigación mutua antes de la cópula.

- Olfateo de pareja: cuando uno de los animales olfatea al otro la región de la cabeza, el dorso o los costados.
- Limpieza corporal: el animal se lame el lomo o los costados.
- Limpieza de genitales: el animal, inmóvil, se incorpora sobre sus extremidades posteriores y procede a la limpieza de su región genital.

#### A2) Persecuciones.

Es una actitud típicamente precopulatoria, en la que un animal intenta alcanzar apresuradamente al otro, desplazándose tras él y siguiendo su misma trayectoria.

#### A3) Intento de monta.

El individuo macho se aproxima por detrás a la hembra colocándole sus patas delanteras sobre el lomo, pero no se llega a realizar una cópula efectiva, en general por no responder la hembra con un reflejo lordótico. Muchos autores le adjudican el mismo valor sexual que la monta, pero en nuestro trabajo han sido consideradas como actitudes claramente diferentes.

#### A4) Salto de flecha.

Es un comportamiento característico de la rata hembra sexualmente receptiva y que consiste en unos

pequeños saltos, a veces en zig-zag, con una parada brusca al final, acompañada de una rigidez muscular muy acusada y a veces un cierto movimiento muy rápido de las orejas.

Tipo B: actitudes sexuales copulatorias.

B1) Monta.

La monta característica se produce cuando el macho monta a la hembra por detrás con una orientación correcta y coincidiendo con una respuesta lordótica de ésta. Al mismo tiempo, el macho abraza los flancos de la hembra con sus patas delanteras, a la vez que realiza movimientos pélvicos más o menos intensos, encaminados a conseguir que se produzca una intromisión y posteriormente una eyaculación. Después de una monta eficaz el macho entra en un período refractario, con dos etapas claramente definidas, en la primera (período refractario absoluto) desaparecen todas las respuestas de atención a la hembra y en la segunda (período refractario relativo) se inicia un comportamiento exploratorio antes de dar comienzo a otra secuencia de contacto sexual.

B2) Lordosis.

Es la postura típica de la hembra sexualmente receptiva durante la cópula. Básicamente consiste en un aplastamiento general del cuerpo, apoyando la región ventral contra el suelo mientras proyecta hacia atrás el área ano-genital y se produce una elevación de la cabeza y de la cola, que al mismo tiempo se lateraliza. Todo ello acompañado de una rigidez corporal característica.

Tipo C: actitudes agresivas.

Se han contabilizado como posturas agresivas las siguientes: amenaza, enfrentamiento y boxeo, descritas anteriormente en el apartado II. 4.5. de este capítulo.

También se ha contabilizado en este grupo de posturas una actitud que hemos considerado como de rechazo sexual. Consiste en que cuando el macho intenta acercarse a la hembra, generalmente para realizar un O.A.G. o una monta, si dicha hembra no está en ese momento receptiva, responde golpeando reiteradamente con sus patas traseras en el hocico del macho.

Tipo D: actitudes de juego o pseudoagresivas.

El forcegeo es un comportamiento típico, que consiste en una pequeña interacción rápida con intercambio de pequeños golpes con las patas delanteras. A veces se produce un pequeño revolcón o pueden intercambiarse pequeños amagos de mordiscos, pero todo ello sin ningún significado agresivo, prueba de ello es que se suelen ver asociados a persecuciones y a montas y además no se producen vocalizaciones.

Además de estas posturas se contabilizó el tiempo de emergencia (T.E.), el número de atusamientos rostrales (A.R.), el número de vocalizaciones (V) y la defecación (Def.) producidos durante la prueba, parámetros todos ellos de significación emotiva.

#### II. 4.8.- Aprendizaje de discriminación espacial en laberinto.

En esta prueba hemos utilizado un condicionamiento alimenticio con refuerzo continuo 1:1.

La motivación se ha inducido sometiendo a los animales a una restricción alimenticia, manteniéndoles con pequeñas oscilaciones alrededor del 80% de su peso normal.

Cinco días antes del comienzo de las pruebas los animales eran pesados y se les privaba de alimento, dejándoles agua "ad libitum". Tres días más tarde eran pesados nuevamente y se les daba una ración controlada de alimento en función de la pérdida de peso observada, procedimiento que se repitió diariamente durante el período de pruebas.

Hemos elegido como nivel de motivación alimenticia el correspondiente a un 80 % del peso normal del individuo ya que después de realizar una serie de tanteos previos con animales de características similares a los estudiados, hemos podido observar que mantenían un buen nivel de motivación al mismo tiempo que conservaban buenas condiciones físicas y niveles de actividad y atención aceptables para la realización de la prueba.

La fase de adquisición se estableció en doce días de duración, ya que a partir de ese día tiende a estabilizarse el número de respuestas. Por el mismo motivo se estableció una duración de seis días para la fase de retención que se realizaba cincuenta días después de finalizada la fase de adquisición.

Cada individuo pasaba diariamente, durante las dos fases en las que hemos dividido el proceso, por la prueba de laberinto en sesiones de diez minutos como máximo. Habiendo en cada sesión cinco ensayos con una duración máxima de dos minutos cada uno. Cada ensayo comenzaba colocando al animal en la caja de salida y levan



tando después la trampilla de acceso al pasillo central del laberinto. En cada ensayo se contabilizaron las siguientes variables:

- 1) Respuesta - correcta (A): cuando el animal sale del recinto de salida, llega al fondo del brazo derecho del laberinto (meta correcta) y come.
- 2) Respuesta - error (E): el individuo sale de la caja de salida, explora y llega al fondo del brazo incorrecto (aquel en el que no hay alimento). En este momento se interrumpe el ensayo y se devuelve al animal a la caja de salida para comenzar un nuevo ensayo, este procedimiento impide que el animal pueda asociar unívocamente cada una de las direcciones del sentido de su marcha (derecha, izquierda del laberinto) con la presencia o ausencia de comida, para lo cual ambas situaciones no deben aparecer en un mismo ensayo.
- 3) No-respuesta (N-R): el animal, sobre todo en los primeros días de entrenamiento, podía consumir los dos minutos de un ensayo dentro de la caja de salida, sin aventurarse a salir a un recinto nuevo, o saliendo al pasillo central y regresando inmediatamente al punto de partida, o permaneciendo inmóvil en alguna zona del pasillo central. En todos estos casos, que denominamos N-R, el animal no llega a dar ninguna respuesta discriminativa en el laberinto, dentro del tiempo de dos minutos establecido como máximo para la duración de un ensayo.
- 4) Tiempo de emergencia (T.E.): es el tiempo, medido en segundos, que el animal tardaba en salir desde la caja de salida al recinto experimental cuando se levantaba la puerta de acceso.
- 5) Tiempo de ejecución (T. Ej.): es el tiempo que el individuo invierte en recorrer el recinto desde que sale de la caja de salida hasta que llega al brazo derecho del laberinto y come. Esta variable sólo se ha tenido en cuenta en la fase de retención, cuando todos los grupos experimentales habían estabili-

zados sus respuestas correctas, con el fin de aclarar si una vez que controles y grupos experimentales daban respuestas correctas estables, unos eran más rápidos que otros en la ejecución.

Las pruebas de discriminación se realizaron entre los 80 y los 91 días de edad de los animales para la fase de adquisición y entre los 141 y los 146 días para la fase de retención.

#### II. 4.9.- Aprendizaje de evitación activa en caja de Mowrer-Miller.

Hemos utilizado para el estudio de este tipo de condicionamiento la caja de dos compartimientos o de Mowrer-Miller, anteriormente descrita.

En pruebas de tanteo previo con animales similares en edad, peso y de ambos sexos pudimos establecer el umbral de sensibilidad al choque para obtener una respuesta óptima en esta prueba, es decir, una respuesta motora de evitación y no una paralización de los individuos ("congelamiento").

De esta forma establecimos los voltajes en 60 y 70 v para las pruebas realizadas a los 80 y 140 días de edad respectivamente, siempre con una intensidad de 20 mA.

Las pruebas se han realizado en sesiones diarias individuales que tenían cinco minutos de duración. La duración de la fase de adquisición se estableció en diez días y en cinco días la fase de retención. Esta decisión se tomó en base a los resultados obtenidos en tanteos previos, que indicaban una estabilidad en la ejecución de esos días de entrenamiento.

La prueba comienza colocando el animal en cualquiera de los dos compartimientos de la caja de Mowrer-Miller y al comienzo de

un ciclo, es decir, al comienzo de un período de obscuridad de treinta sg. Al final de dicho período se presenta el Estímulo Condicionado (E. C.) que consiste en el encendido de la luz correspondiente al compartimiento que en ese momento ocupa el animal. La duración máxima del E.C. se establece en cinco sg, si durante esos segundos de iluminación el animal no ha dado la respuesta adecuada (saltar la barrera) que interrumpe el ciclo, comienza el Estímulo Incondicionado (E.I.), es decir, el choque eléctrico en las patas que se apoyan en el suelo electrificado. La luz se mantiene encendida durante la duración total del choque, que establecimos en tres sg como máximo y que se interrumpe si el animal salta la barrera. Después de esta secuencia de acontecimientos comienza un nuevo ciclo a partir de un nuevo período de oscuridad, período que es muy importante para que el animal descanse de la tensión que le produce la aparición del E. C. y E. I. subsiguiente.

A lo largo de la prueba hemos considerado tres tipos de respuestas:

- 1) Respuesta de escape: el sujeto al sentir el choque eléctrico es capa saltando por encima de la barrera, con lo cual se interrumpe el castigo.
- 2) Respuesta de evitación: el animal aprende a saltar la barrera durante el período de iluminación, antes de la aparición del choque eléctrico. Esta es la respuesta correcta que se trata de conseguir en este tipo de condicionamiento: el animal asocia el E. C. (luz) con el E. I. (choque eléctrico), emitiendo en presencia de la luz la respuesta de salto que le permite evitar la descarga eléctrica en sus patas.
- 3) Respuesta - cero: el animal situado en uno de los dos compartiti mientos deja transcurrir los cinco sg del E. C. y los tres sg del E. I. sin emitir ninguna de las respuestas descritas anteriormente.

También hemos contabilizado las defecaciones producidas durante la prueba.

#### II. 4.10.- Adrenalectomía bilateral.

Se realizó a los 130 días de edad de los animales, y siguiendo un proceso convencional.

En primer lugar, los animales fueron anestesiados con éter anestésico. Posteriormente se realizó la operación, iniciándose con la eliminación del pelo del animal de la zona y practicando una incisión bilateral en la región dorsal postorácica, a dos cm aproximadamente de la línea media. Una vez separados la piel y el músculo y localizada la adrenal, se extraía sin realizar ninguna ligadura, sólo presionando con las pinzas para colapsar la irrigación de la glándula.

Una vez extraídas, primero la derecha y luego la izquierda, se limpiaban de los restos de grasa que tenían alrededor, se depositaban en unos pequeños recipientes de aluminio y se pesaban inmediatamente, obteniéndose así el peso fresco de las glándulas a la temperatura ambiente, a continuación se colocaban en una estufa a 40° C durante 48 horas. Transcurrido ese tiempo se volvían a pesar para obtener el peso seco de las glándulas.

El método de secado se estableció después de realizar un estudio previo en animales de similar edad y peso y de ambos sexos. Después de efectuar la extracción y colocar las adrenales en sus recipientes de aluminio, se pesaron y colocaron en la estufa a 40 ° C de donde se fueron sacando cada 12 horas para volver a pesarlas, después de lo cual se devolvían inmediatamente a la estufa. De esta forma se obtuvieron datos hasta completar un total de 192 horas (ocho días). Con todas las medidas realizadas pudimos establecer una tabla, en la cual se observó que el peso seco de las

glándulas se estabilizaba completamente a las 48 horas, pues a partir de esta medición no hubo ninguna oscilación significativa hasta la registrada a las 192 horas.

En nuestro trabajo no hemos utilizado los valores absolutos de los pesos fresco y seco de las glándulas adrenales, sino los relativos en función del peso corporal de los individuos. De manera que los datos analizados, a los que nos referiremos posteriormente, son peso fresco / peso corporal y peso seco / peso corporal de las adrenales.

#### II. 4.11.- Recogida de muestras y valoración de la corticosteronemia por Radioinmunoanálisis (RIA).

Las muestras se tomaron a los 130-140 días de edad de nuestros animales, siguiendo tres procedimientos diferentes: nivel basal, nivel de corticosterona en sangre a los quince min de aplicado un estrés y nivel de corticosterona a los treinta min de aplicado el mismo estrés. Con todo ello pretendíamos medir el nivel basal de corticosterona en nuestros animales, así como los niveles de hormona en respuesta a un estrés a corto y medio plazo.

1) Habituación previa: antes de la recogida de las muestras los animales eran sometidos a un proceso de habituación a la manipulación durante siete días consecutivos.

La manipulación consistía en repetir la misma secuencia de acontecimientos que se iba a desarrollar el día de la extracción de sangre. Básicamente consistía en sacar a los animales del estabulario uno a uno, en una jaula individual y en el mismo orden en el que se repetiría el día de la recogida de sangre. El siguiente paso era colocarlos sobre la mesa, tapándolos con un paño para sujetarlos, con suavidad y firmeza, por detrás de la cabeza, rodeando el cuerpo y cruzandoles las

patas delanteras por debajo del tórax. A continuación, se los mantenía en esa posición, suspendidos en el aire, durante aproximadamente diez sg, después de lo cual se los volvía a apoyar en la mesa, quitándolos el paño y colocándolos nuevamente en su jaula individual para devolverlos a sus respectivas cajas en el interior del estabulario.

El método seguido en esta manipulación previa se hacía de acuerdo en líneas generales con el de Gallant y Browhie (103).

- 2) Extracción de sangre: como ya se ha indicado en el apartado I. 2.1., está bien establecido que el régimen de luz parece operar como un importante sincronizador del ritmo circadiano de corticosterona en plasma (7). En este sentido, el nivel de corticosterona en la rata se incrementa durante el período de luz, alcanzando un valor máximo al comienzo del período de oscuridad; a partir de ese momento dicho nivel decrece lentamente hasta alcanzar un valor mínimo cerca del comienzo del siguiente período de luz, con lo que el ciclo se cierra. Debido a este ritmo circadiano de la corticosterona, es muy importante la elección de la hora que se establezca para la extracción de sangre de los animales. En nuestro trabajo se eligió la cuarta hora después del comienzo de la fase con luz roja en el estabulario, momento que equivale a un valor medio y relativamente estable dentro del ritmo circadiano de la hormona (7). De esta forma, nuestros animales fueron decapitados en el período comprendido entre las 12 y las 13 horas, de acuerdo con el procedimiento de Coover y col. (61).

Desde el apresamiento del animal en el estabulario nunca pasaron más de quince segundos hasta su decapitación. El animal era extraído del estabulario dentro de su jaula individual, se lo llevaba a la mesa de la sala de experimentación (adyacente al estabulario) y cubriéndolo con un paño se le sujeta-

ba como ya hemos indicado en la descripción del método de manipulación, pero durante esos diez segundos, que antes se mantenía en el aire ahora se realizaba la decapitación. Toda esta secuencia de acontecimientos se llevaba a cabo con una iluminación de luz blanca muy tenue y en una sala insonorizada en la cual funcionaba un ruido monótono de fondo para enmascarar posibles filtraciones.

Se recogían 3 ml de sangre en un tubo de vidrio con 0,2ml de heparina y la muestra se llevaba inmediatamente a 0° C, siguiendo el método de Lescoat y Feliot (155).

Una vez recogidas las muestras se realizaba una centrifugación a 3600 rpm (2000 g) durante quince minutos, después de lo cual se recogía el plasma (sobrenadante) y colocándolo en tubos Eppendorf se mantenía en un arcón frigorífico a -25°C (155), hasta la determinación por RIA de la corticosterona, método que describiremos más adelante.

- 3) Determinaciones: como decíamos en un principio se han realizado tres determinaciones correspondientes a tres momentos diferentes:
- Nivel basal de hormona: Siguiendo un procedimiento exactamente igual al descrito anteriormente.
  - Nivel de hormona a los quince minutos de aplicado un estrés: el día de la recogida de sangre se sometía a los animales de los diferentes grupos asignados a esta determinación a un estrés de tipo bajo. Eran extraídos del estabulario en jaulas individuales. Se llevaban a la sala adyacente y eran colocados en un pequeño recinto de paredes de metacrilato transparente de 20 x 20 x 40 cm cuyo suelo era una parrilla electrificable. Allí durante un minuto recibían cada diez segundos descargas de 35 v y 20 mA, en las patas, de este modo recibían seis descargas en total. Inmediatamente se

los sacaba de este recinto y se los depositaba en sus jaulas individuales para llevarlos al estabulario donde permanecían durante quince minutos, para nuevamente retornar a la sala de experimentación donde se procedía a su decapitación y posterior recogida de las muestras de plasma como ya ha sido descrito.

En estudios previos que realizamos con animales de la misma edad, peso similar y de ambos sexos, pudimos determinar el voltaje adecuado. Elegimos un voltaje muy bajo, en el que los animales daban sólo ligeras muestras de estremecimiento corporal y no todos vocalizaban con el fin de observar si pequeñas situaciones adversas, inductoras de estrés de baja intensidad, podían afectar de distinto modo, o en distinta proporción, a la respuesta hormonal de los diferentes grupos experimentales.

- Nivel hormonal a los treinta minutos de aplicado un estrés: la recogida de estas muestras ha seguido exactamente los mismos pasos descritos en el apartado anterior, con la salvedad de que los animales situados en el estabulario, después de la aplicación del estrés, permanecían en él durante treinta minutos antes de la extracción de sangre por decapitación.

- 4) Valoración de la corticosteronemia por radioinmunoanálisis(RIA): Las valoraciones de corticosterona en plasma se hicieron por radioinmunoensayo, según las indicaciones del proveedor de los reactivos (Radioassay Systems laboratories, Inc.). Brevemente el método utilizado fue el siguiente, los animales se sacrificaron por decapitación, como ya se ha indicado, y la sangre se recogió en tubos heparinizados, tras eliminar los elementos formes por centrifugación, el plasma se guardó en tubos Eppendorf a -25 ° C hasta el momento del ensayo.



El plasma se diluyó 1/125 en tampón de ensayo y se tomaron triplicado muestras de 0,5 ml, que se calentaron a 100°C durante diez minutos para desnaturalizar las proteínas que ligan corticosterona. Tras enfriar a temperatura ambiente se añadieron 0,1 ml de antisuero anticorticoesteroideo, 0,1 ml de corticosterona tritiada ( $8 \cdot 10^4 - 10^5$  cpm/ml) y la mezcla se incubó a 4°C durante dos horas. La hormona no ligada al anticuerpo se eliminó adsorbiéndola sobre carbón activo cubierto de dextrano y centrifugando (2500 rpm, quince minutos). La cantidad de hormona ligada radioactiva se midió contando el sobrenadante en un contador de centelleo líquido. Utilizando los blancos y controles apropiados se calculó el porcentaje de hormona marcada que se unía al anticuerpo en presencia del plasma problema. La interpolación de este valor en una curva patrón construida en las mismas condiciones con soluciones estándar de corticosterona nos dio la concentración de hormona presente en cada muestra. Los resultados de los tubos triplicados fueron promediados.

## II. 5.- TÉCNICAS ESTADÍSTICAS.

A continuación pasamos a indicar las técnicas estadísticas que han sido aplicadas para analizar los datos obtenidos en las diferentes pruebas.

Para cada una de las variables o períodos de tiempo estudiados en las pruebas de campo abierto, agresión intraespecífica y actímetro se ha aplicado un análisis de varianza factorial, interno a cada una de las edades estudiadas en cada caso, con dos factores fijos, siendo el sexo y el tratamiento experimental los factores considerados (250).

También se aplicó un análisis de varianza factorial a los datos de peso corporal (etapa postdestete), peso relativo de las glándulas adrenales (peso fresco/peso corporal y peso seco/p.corporal) y a los valores de corticosteronemia, siendo en todos los casos los factores considerados sexo y tratamiento experimental.

Hemos elegido un análisis de varianza factorial como prueba óptima en estos trabajos donde intervienen hasta ocho grupos experimentales diferentes, estudiados en tres momentos distintos de su vida, porque de este modo una sola prueba estadística nos ha permitido conocer si existen o no diferencias significativas debidas a los tratamientos neonatales aplicados a los diferentes grupos experimentales, y/o debidas al sexo y/o debidas a la interacción de ambos factores.

Se realizaron las pruebas de significación estadística mediante un test de F (250).

Siempre que una vez aplicado el análisis de varianza factorial se obtuviera un valor estadísticamente significativo para la interacción se procedió a realizar un análisis de varianza jerárquico simple (250), siendo el tratamiento experimental el factor fijo considerado.

Para todos los análisis de varianza factorial cuyos resultados indicaron diferencias estadísticamente significativas entre grupos experimentales, se realizaron pruebas de comprobación múltiple dentro de cada edad, aplicando el test de Tukey (12), que nos permitía identificar los grupos que en concreto diferían entre sí. El test de Tukey ofrece en este caso más ventajas que la prueba t repetida, debido al alto número de comparaciones que tendríamos que realizar, evitando de esta forma la acululación de errores de tipo I (252).

Para el estudio de los datos obtenidos en las pruebas de sexualidad se realizó un análisis de varianza jerárquico simple,

para ver la influencia de los tratamientos neonatales en cada una de las edades estudiadas, realizándose la prueba de significación estadística mediante el test de F. Cuando los análisis de varianza indicaban diferencias significativas debidas al tratamiento se aplicaba un test de Tukey a fin de comprobar entre qué grupos concretamente existían diferencias.

El mismo procedimiento (análisis de varianza jerárquico simple, seguido de una prueba de comparación múltiple) se aplicó en el análisis de los datos del peso en la etapa neonatal.

La prueba de agresión interespecífica estudia una variable binómica (que la rata sea muricida o no), por lo que sus resultados debieran ser sometidos a un test  $\chi^2$  de contingencia (252), pero las frecuencias obtenidas en nuestro trabajo han sido tan bajas que no permiten cuantificarlos.

En las pruebas de aprendizaje de Mowrer-Miller, a los 80 días y a los 140 días, los datos obtenidos fueron ajustados a una recta ( $y = a_0 + a_1x$ ) por el método de regresión lineal (206). Posteriormente los coeficientes de regresión ( $a_0, a_1$ ), obtenidos para cada grupo experimental fueron comparados entre sí por un test "t de Student", excepto para la variable escapes en la primera etapa del aprendizaje (adquisición) en las hembras, cuyo ajuste se hizo a una curva ( $y = a_0 + a_1x + a_2x^2$ ) por el método de regresión parabólica. Posteriormente los coeficientes de regresión ( $a_0, a_1, a_2$ ) obtenidos para cada grupo experimental fueron comparados entre sí por un test "t de Student".

En las pruebas de aprendizaje en laberinto, a los 80 y 140 días, los datos obtenidos fueron ajustados a una recta, por el método de regresión lineal, excepto en los casos de las variables: aciertos y tiempo de emergencia en la primera etapa del aprendizaje (adquisición) y tiempo de emergencia en la segunda etapa del aprendizaje (retención), cuyos datos fueron ajustados a una curva,

por el método de regresión parabólica. Posteriormente, tanto los coeficientes de regresión lineal ( $a_0, a_1$ ) por una parte, como los de regresión parabólica ( $a_0, a_1, a_2$ ) por otra, obtenidos para cada grupo experimental, fueron comparados entre sí por un test "t de Student".

En el caso de la variable No-Respuesta obtenida en la segunda fase del aprendizaje (retención), se realizó un análisis de varianza factorial, con dos factores fijos: tratamiento y sexo, sólo para el día uno, pues a partir del día dos esta variable fue cero.

Los niveles de significación estadística obtenidos en cada uno de los casos y a lo largo de las diferentes pruebas se detallarán en el apartado de Resultados y Discusión.

### III.   R E S U L T A D O S   Y   D I S C U S I O N

### III. 1.- VALORACION HORMONAL DE CORTICOSTERONA.

Nuestros resultados se representan en la Tabla II y en la figura 2.

#### III. 1.1.- Nivel basal de corticosterona.

Tanto los grupos experimentales como el control han presentado diferencias sexuales en el nivel basal de corticosterona circulante en plasma, siendo siempre las hembras las que han presentado los valores más altos. El nivel de significación estadística ha sido el mismo para todos los grupos ( $p < 0,001$ ).

Respecto al tratamiento neonatal, en los grupos de machos, hemos encontrado diferencias entre RSC y C ( $p < 0,05$ ) y entre SSC y C ( $p < 0,05$ ), siendo los dos grupos tratados neonatalmente los que han presentado los valores más altos.

No hemos encontrado diferencias debidas al tratamiento entre los grupos de hembras.

#### III. 1.2.- Nivel de hormona en plasma a los 15 minutos de la aplicación del estrés (choque eléctrico).

Aparecen diferencias sexuales en todos los grupos estudiados, a favor de niveles más altos en las hembras. El nivel de significación estadística ha sido el mismo para todos los grupos ( $p < 0,001$ ).

En cuanto al tratamiento, en los grupos de machos hemos encontrado que tanto el grupo RSC ( $p < 0,001$ ) como el SC ( $p < 0,01$ ) presentan diferencias respecto al control, siendo la concentración de corticosterona en plasma más baja en los grupos experimentales.

En los grupos de hembras hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas sólo entre RSC y C ( $p < 0,01$ ), siendo

el grupo tratado en la etapa neonatal el que ha presentado los valores más bajos.

III. 1.3.- Nivel de hormona en plasma a los 30 minutos de la aplicación del estrés (choque eléctrico).

Nuevamente hemos encontrado diferencias sexuales en todos los grupos estudiados, tanto en los tratados neonatalmente como en el control, ( $p < 0,001$ , en todos los casos), y siempre a favor de valores más altos en las hembras.

Entre los grupos de machos sólo el RSC difiere significativamente del control ( $p < 0,01$ ) presentando valores más bajos. En los demás grupos de machos no aparecen diferencias estadísticamente significativas respecto al control, aunque puede apreciarse una tendencia a presentar unas concentraciones de hormona circulante en plasma más bajas que el grupo de machos control.

En los grupos de hembras, sólo el RSC difiere del control ( $p < 0,001$ ) mostrando unos niveles de corticosterona en plasma más bajos que el control. Los grupos SSC y SC también presentan valores más bajos, pero en estos casos no llegan a ser estadísticamente significativos.

En resumen, nuestros datos indican que en los tres puntos estudiados ( nivel basal, respuesta a los 15 min de aplicado el estrés y respuesta a los 30 min de aplicado el mismo estrés) hemos encontrado diferencias sexuales en todos los grupos, tanto en los tratados neonatalmente como en los controles. Estas diferencias se han traducido siempre en un nivel superior de corticosterona circulante en los grupos de hembras.

Además todos los grupos tratados neonatalmente (machos y hembras) muestran niveles basales de hormona más altos que los con-

Tabla II

Influencia del estrés en los  
niveles de corticosterona en plasma

Grupo	Basal	15 min	30 min
C	113 $\pm$ 7	402 $\pm$ 9	379 $\pm$ 18
♂ SC	145 $\pm$ 14	*316 $\pm$ 22	359 $\pm$ 28
SSC	*156 $\pm$ 11	369 $\pm$ 15	330 $\pm$ 16
RSC	*157 $\pm$ 8	***305 $\pm$ 13	**272 $\pm$ 17
C	365 $\pm$ 31	721 $\pm$ 26	586 $\pm$ 24
♀ SC	421 $\pm$ 29	720 $\pm$ 17	571 $\pm$ 30
SSC	419 $\pm$ 33	696 $\pm$ 46	565 $\pm$ 39
RSC	417 $\pm$ 13	**586 $\pm$ 30	***393 $\pm$ 24

Los valores representados indican la concentración media (ng/ml) de corticosterona en plasma, valorada como se describe en el apartado II.4.11. Los asteriscos representan diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo control. El resto de los símbolos como en la Tabla I.

\* p < 0,05

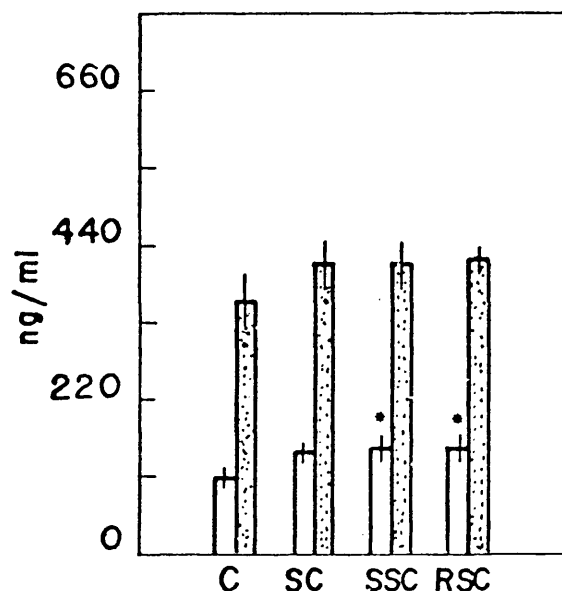
\*\* p < 0,01

\*\*\* p < 0,001

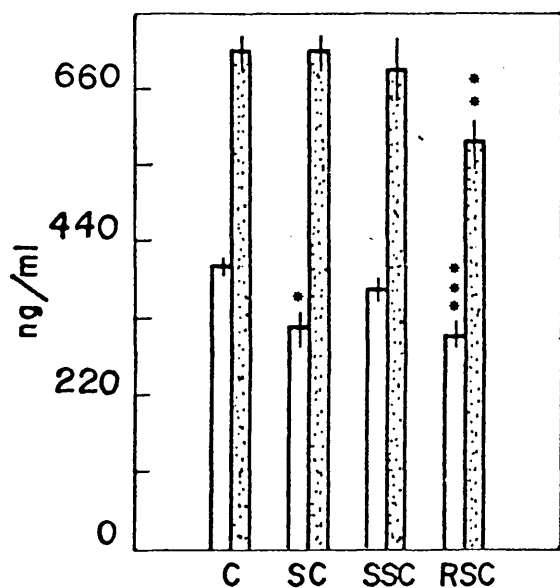
troles; pero hay que hacer notar que entre las hembras estas diferencias no son significativas, mientras que sí lo son entre los grupos de machos. Este hecho nos induce a pensar en la posibilidad de que sean los machos los individuos más afectados por el tratamiento neonatal, tratamiento que se ha traducido en una elevación del nivel basal de corticosterona en plasma de los animales tratados respecto de los controles.



# Basal



15 min



30 min

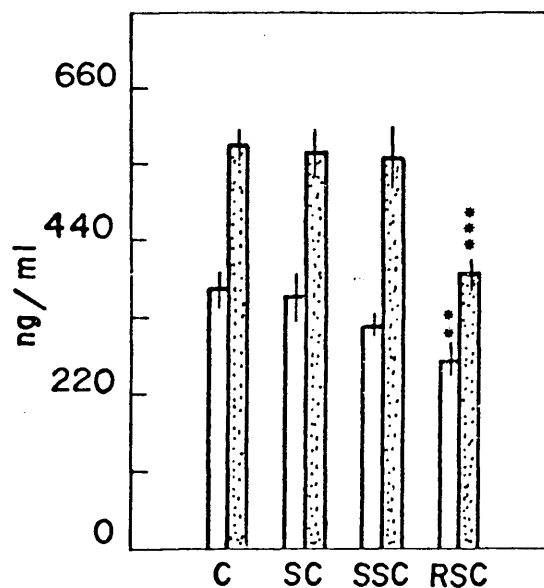


Figura 2.- Niveles de corticosterona en el plasma sanguíneo de los distintos grupos experimentales.

Las valoraciones hormonales se hicieron por radioinmunoensayo como se describe en la sección II.4.11., tanto en condiciones basales como después de 15 ó 30 minutos de haber sufrido un choque eléctrico. La altura de las barras es proporcional a la concentración media de hormona en cada grupo experimental y cada línea vertical fina corresponde al error estándar. Las barras blancas corresponden a los individuos machos y las punteadas a las hembras. El resto de los símbolos como en la Tabla I.

•  $p < 0,05$

••  $p < 0,01$

•••  $p < 0,001$

Nos encontramos ante un modelo de funcionamiento hormonal diferente en los animales tratados en la primera etapa de su vida postnatal que el que presentan los controles, tal y como parece que ocurre en nuestro modelo experimental. Este modelo de funcionamiento hormonal, que implica un cambio en los niveles basales de corticosteroides circulantes, podría significar un importante eslabón fisiológico para explicar porqué los animales manipulados en su época neonatal presentan en la edad adulta un amplio despliegue de respuestas comportamentales diferente al de los controles, especialmente en aquellos patrones de conducta que aparecen en respuesta a situaciones ambientales con significación de estrés. Este mismo modelo de funcionamiento endocrino que afecta de manera desigual a los niveles de corticosterona basal en machos y en hembras podría también explicar, al menos parcialmente, las diferentes pautas comportamentales presentadas por cada sexo ante las situaciones adversas del medio.

En este sentido, son muy pocos los trabajos experimentales a nivel endocrino que se han llevado a cabo utilizando ratas macho y hembra. Realizando una comparación entre algunos trabajos en los que se han empleado sólo machos (8,61,129,138,155) y otros en los que se han empleado sólo hembras (49,88,103,195,196) podemos observar como aparecen diferencias sexuales en los niveles basales de corticosterona, a favor de valores más altos en las hembras, aunque por supuesto esta comparación que acabamos de hacer hay que tomarla con precaución pues las cepas de ratas son diferentes en algunos casos y los métodos de determinación hormonal también.

Estos datos, que indican diferencias sexuales en el nivel basal de corticosterona coinciden con los obtenidos por nosotros, como hemos señalado anteriormente. Estas diferencias sexuales se mantienen en todos los grupos experimentales, de manera que podemos decir que el tratamiento neonatal no ha interferido, al menos

de una manera radical, hasta el punto de anularlas.

Otra consideración importante a tener en cuenta es el hecho de que los machos resulten más sensibles al tratamiento neonatal empleado, ya que en todos los grupos experimentales de machos aparece alguna diferencia con el control, mientras que entre las hembras sólo aparecen en el grupo RSC.

Este hecho quizás habría que considerarlo teniendo en cuenta que nuestro tratamiento neonatal coincide en el tiempo con el período crítico para la diferenciación sexual del cerebro (80,82, 138,167,267,282) y quizás por ello, de alguna manera, se vea alterado de una forma más drástica el sistema endocrino de respuesta al estrés en los machos.

Nuestros resultados indican que los niveles basales de corticosterona en los grupos de machos tratados neonatalmente son más altos que el control y puesto que aparecen diferencias sexuales a favor de niveles de hormona más altos en las hembras se podría apuntar hacia una cierta "demasculinización" de los machos de los grupos experimentales y sobre todo de aquellos que recibieron los tratamientos más duros (RSC y SSC). Tal hipótesis resulta plausible y en línea con lo apuntado por otros autores, aunque su confirmación definitiva sólo podrá venir a través de nuevas investigaciones bioquímicas y fisiológicas.

Los niveles de hormona circulante en plasma a los 15 minutos de aplicado el estrés han sido siempre más bajos en los grupos tratados neonatalmente que en los controles y tanto en machos como en hembras. Además hemos encontrado la misma tendencia a los 30 minutos de aplicado dicho estrés.

En resumen los grupos tratados neonatalmente (machos y hembras) muestran unos niveles de corticosterona basal más altos que los controles. Una vez aplicado el estímulo inductor de estrés se produce un disparo en los niveles de la hormona alcanzando va-

lores muy altos (aproximadamente duplicando el nivel basal);pero en las muestras tomadas a los 15 minutos podemos apreciar como los grupos experimentales presentan niveles más bajos de hormona en plasma, bien porque no han alcanzado una concentración hormonal tan alta o bien porque han iniciado antes un descenso hacia la recuperación de los niveles basales.

A los 30 minutos podemos apreciar como todos los grupos experimentales, machos y hembras, siguen presentando niveles hormonales más bajos que los controles, aunque en general ningún grupo alcanza todavía los niveles basales. Conviene apuntar aquí el hecho de que sean los grupos RSC machos y RSC hembras los que se aproximan más a los valores basales. También merece tenerse en cuenta el hecho de que sean las hembras, en general, las que a los 30 minutos de aplicado un estrés se encuentren ya más próximas a los valores iniciales, mientras que los machos, en general, muestran todavía concentraciones duplicadas respecto al nivel basal.

Podemos decir, por lo tanto, que el tratamiento RSC ha sido el más contundente en sus efectos, tanto en machos como en hembras, mientras que los tratamientos SSC y SC sólo han sido eficaces en machos ( y en menor grado que el RSC), pues sólo afecta al nivel basal en SSC y a la respuesta a los 15 minutos de aplicado el estrés en SC.

De este modo se puede apreciar como en los primeros períodos de la vida de la rata el medio ambiente comienza a ejercer una poderosa influencia sobre la conducta futura que tendrá el individuo adulto, y concretamente sobre las pautas comportamentales adaptativas que se desarrollen en respuesta a una situación de estrés y que supongan una activación del eje adrenal.

Los pioneros en el estudio de las influencias del medio ambiente temprano sobre la conducta posterior del individuo, encon-

traron que la estimulación neonatal podía ser beneficiosa ya que potenciaba el rendimiento biológico y etológico de los roedores, y así encontraron que diferentes tipos de estímulos tales como la manipulación de los individuos (75,76,99,269), la modificación de las condiciones sociales del medio neonatal (30,73,77,130,190, 268) o la manipulación del ambiente físico que rodea a las crías (18,244) reducía, en general, la respuesta emotiva de los roedores medida a través de diferentes pruebas comportamentales.

Pero quizá el concepto de que la estimulación neonatal "potencie el rendimiento biológico y etológico de roedores" haya que emplearlo con reparo, evitando manejarlo desde un punto de vista antropomórfico. Así, las modificaciones comportamentales inducidas por la estimulación neonatal habría que interpretarlas en el sentido de una mejora o empeoramiento de las respuestas comportamentales adaptativas de los individuos, siempre intentando realizar comparaciones entre diferentes especies y entre estudios de laboratorio y de campo. De este modo tal vez pudieramos observar como la manipulación neonatal presenta múltiples grados de complejidad y quizá una sobreestimulación neonatal no excesivamente drástica sí potencie el rendimiento biológico y etológico pero sobrepasando un cierto umbral, que se presenta frágil e impreciso, ya no se potencien dichos rendimientos sino tal vez todo lo contrario.

Nuestros resultados por una parte apoyarían la interpretación de que sean las hembras las que presenten unas mejores respuestas comportamentales adaptativas ante situaciones adversas y por otra parte también apoyarían la interpretación de que la manipulación neonatal influye sobre el eje H-A-CA de los individuos tratados, determinando en la edad adulta que la respuesta corticoadrenal ante una situación de estrés sea más atenuada, no alcanzando valores tan altos como en los controles. Quedaría por

comprobar si dicha respuesta corticoadrenal también es más adaptable al tipo de estrés. Así, podría plantearse el estudio de la respuesta hormonal, medida en niveles de corticosterona en plasma, ante diferentes agentes inductores de estrés de intensidad creciente y variada, tales como neofobia, luz, sonido, temperatura etc...

También habría que considerar que el sistema H-A-CA es capaz de responder en sus tres niveles (hipotalámico, adenohipofisario y/o corticoadrenal) ante una gran variedad de estímulos entre los cuales se incluye la manipulación del medio ambiente físico (11,19,26,45,61,97,98,101,129,131,220,261) y social (101,130).

Según la interpretación de de Wied (287,288,289) los corticosteroides pueden ser los mediadores fisiológicos en las respuestas comportamentales adaptativas. En concreto, los efectos de la corticosterona sobre dicha conducta adaptativa pueden explicarse a través de la eliminación de las respuestas no-relevantes. En resumen, la corticosterona puede disminuir el estado de excitabilidad ("arousal") en las estructuras límbicas del cerebro.

Por otra parte el propio de Wied propone que tanto la ACTH como sus péptidos derivados pueden aumentar temporalmente el significado motivacional de los estímulos del medio ambiente. Esto aumentaría la probabilidad de que se produzca una respuesta comportamental específica ante un estímulo concreto. Así, el mecanismo por el cual esos neuropéptidos ejercen sus efectos comportamentales puede ser a través de la facilitación de un estado de excitabilidad selectivo.

Además los trabajos de Vale y col. (275) proponen al CRF como un péptido implicado en la respuesta comportamental del organismo al estrés, actuando a través de la activación de los sistemas dopaminérgicos, y dichos autores apoyan la hipótesis de que el CRF puede mediar a nivel cerebral múltiples respuestas comportamentales al estrés.

Todo lo expuesto anteriormente nos llevaría a la consideración de que las manipulaciones neonatales pueden afectar a más de un eslabón en el sistema H-A-CA o a los tres a la vez, por lo cual sería conveniente realizar diferentes estudios dirigidos a conocer cuales son los niveles basales de CRF, ACTH y de sus péptidos afines, así como analizar sus posibles fluctuaciones en respuesta a una situación de estrés, tanto en individuos control como en aquellos otros sometidos a diferentes manipulaciones del medio ambiente neonatal.

Finalmente no podemos olvidar que los tratamientos neonatales también pueden influir decisivamente sobre otros sistemas neuroendocrinos, que resultan activados ante determinadas situaciones de estrés. En este sentido cabe recordar los trabajos realizados por Turner y col. (270) entre otros, que han puesto de manifiesto que los tratamientos neonatales pueden influir decisivamente sobre los niveles de adrenalina asociados con situaciones de estrés en animales maduros. Aunque es conocida la influencia adrenérgica sobre la secreción de ACTH (104, Scapagnini y col. citados en la ref. 88), sin embargo el papel específico de determinadas vías ascendentes noradrenérgicas sobre el sistema H-A-CA no está aún esclarecido, aunque los trabajos de Stotsky y col. (253) realizando estudios "in vitro" han señalado que el neurotransmisor noradrenalina ejerce un efecto inhibitorio sobre el sistema H-A-CA a través de la regulación del CRF hipotalámico.

Según lo expuesto anteriormente podemos deducir que no sólo se puede ver modificado el sistema adrenal como consecuencia de la manipulación neonatal sino que dicho sistema presenta muchas interconexiones con el eje adrenal, de modo que serían necesarios nuevos trabajos en los que se estudiara al mismo tiempo la funcionalidad de dichos sistemas ante una situación de estrés y sus posibles interrelaciones; pero el abordaje de dicha empresa pre-

sentaría, en estudios "in vivo" enormes dificultades.

Por último convendría tener en cuenta que durante la fase neonatal existen otros sistemas neurales inmaduros, tales como los sistemas colinérgicos y dopaminérgicos entre otros (247,227). En este sentido, son importantes los trabajos de Phelps y col. (216) quienes han encontrado que los sistemas dopaminérgicos pueden contribuir al desarrollo de patrones comportamentales en los que intervenga una coordinación motora. Sus resultados sugieren que los sistemas dopaminérgicos pueden contribuir al desarrollo de conductas adaptativas en los roedores en la etapa neonatal. De este modo una estimulación neonatal que induzca una aceleración en la maduración de los sistemas dopaminérgicos o una modificación permanente en la actividad de dichos sistemas podría determinar una mejora en la coordinación motora de esos individuos de forma que de una manera indirecta también se vieran favorecidas las respuestas adaptativas al estrés.

Con todo lo expuesto anteriormente no podemos adjudicar sólo a los glucocorticoides un papel esencial y único en las respuestas adaptativas de los individuos al estrés, aunque si deben considerarse como parte de una compleja red, que como hemos podido comprobar, si parece verse afectada por la manipulación de los individuos en la infancia. Para completar el espectro de conocimientos sería necesario, sin duda, realizar otras experiencias con las que se ampliaran y mejoraran los conocimientos existentes sobre los complejos sistemas adaptativos de los animales ante situaciones adversas.



### III. 2.- PRUEBA DE ACTIMETRO.

Los resultados obtenidos en las pruebas de actímetro se representan en las figuras 3,4,5 y 6 y en las Tablas III-VI.

#### III. 2.1.- Resultados obtenidos a los 23 días de edad.

El análisis de varianza factorial realizado para las pruebas que tuvieron lugar a los 23 días de edad indicó que no había diferencias debidas al sexo ni en la primera ni en la segunda hora de la prueba, pero ambos análisis revelaron la existencia de una interacción significativa, por lo que pasamos a realizar los correspondientes análisis de varianza jerárquicos simples, que pusieron de manifiesto que durante la primera hora no había diferencias debidas al tratamiento entre ninguno de los grupos de hembras, mientras que en los machos se observó que los grupos RSC ( $p < 0,001$ ) y SC ( $p < 0,05$ ) diferían del control.

En la segunda hora de la prueba hemos encontrado diferencias significativas entre RSC y control machos ( $p < 0,05$ ) y entre RSC y control hembras ( $p < 0,05$ ).

El desarrollo de la prueba, a lo largo de las dos horas, ha sido diferente en los grupos experimentales y en los controles, como puede verse en la figura 3.

La neofobia es muy baja en los grupos experimentales, tanto en machos como en hembras, y presentan altos niveles de actividad que se traducen en una mayor exploración y en juegos a lo largo de la primera hora, pero en la segunda hora se habitúan al recinto y los niveles de actividad bajan, este fenómeno aparece más acusado en los grupos RSC machos y hembras.

En las hembras control se observa el mismo desarrollo, es decir, que la actividad descende en la segunda hora pero de una for

C.T.A. ( $\times 10^{-3}$ )

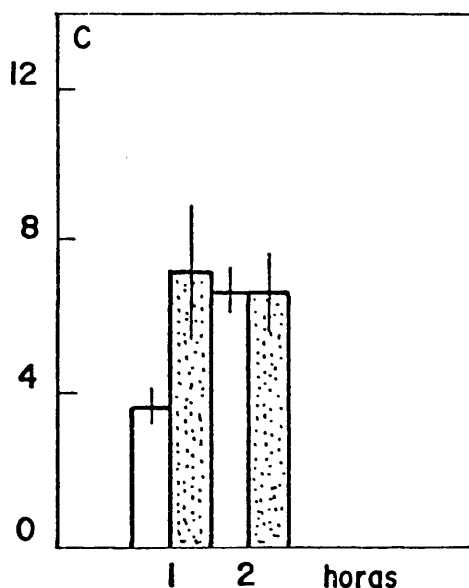
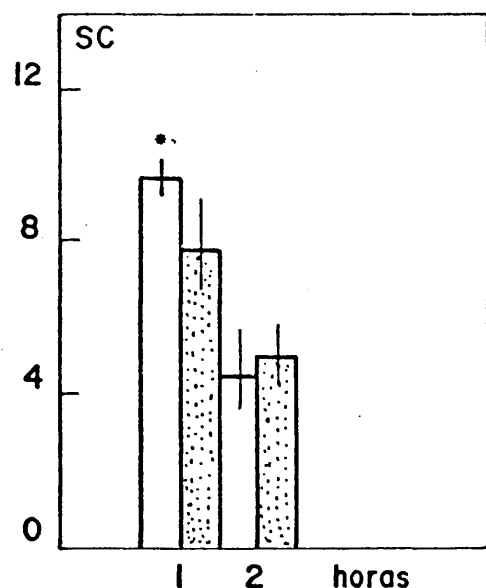
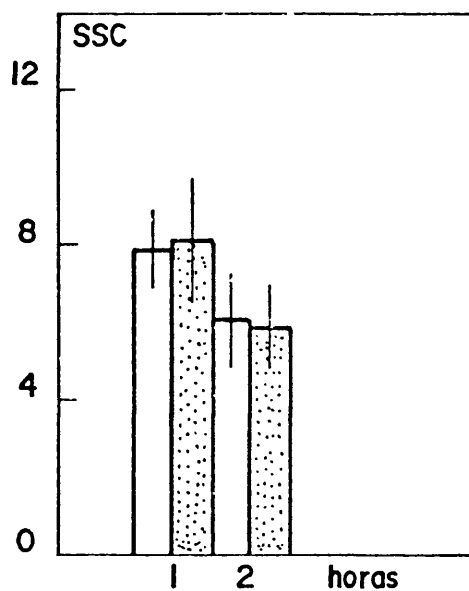
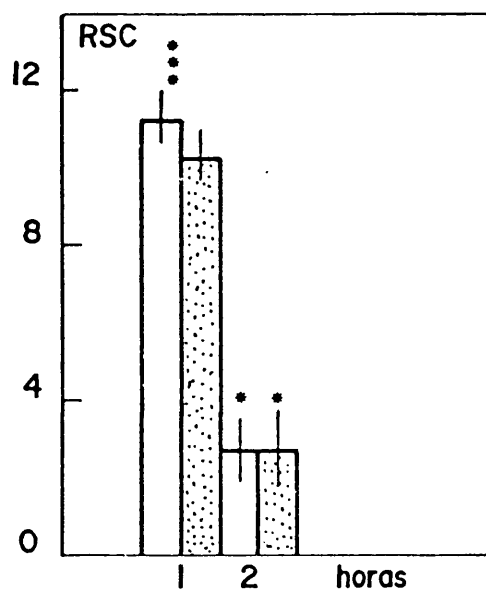


Figura 3.- Actividad espontánea general de los grupos experimentales a los 23 días de edad.

La actividad se midió en un actímetro como se describe en II.4.3. La altura de las barras es proporcional al valor medio del número de cuentas totales de actividad (C.T.A.) para cada grupo. Las líneas verticales finas representan el error estándar. Las barras blancas corresponden a los individuos machos y las punteadas a las hembras. Otros símbolos como en la Tabla I.

\*  $p < 0,05$       \*\*  $p < 0,01$       \*\*\*  $p < 0,001$

TABLA III

Actividad espontánea general de los grupos experimentales a los 23 días de edad

Grupo	1ª hora	2ª hora
♂		
C	3584 $\pm$ 361	6840 $\pm$ 508
SC	*9680 $\pm$ 464	4639 $\pm$ 995
SSC	7819 $\pm$ 950	5931 $\pm$ 1233
RSC	***11264 $\pm$ 676	*2615 $\pm$ 744
♀		
C	7190 $\pm$ 1752	6354 $\pm$ 1009
SC	7803 $\pm$ 1208	5010 $\pm$ 782
SSC	7901 $\pm$ 1683	5776 $\pm$ 953
RSC	10162 $\pm$ 516	*2591 $\pm$ 1017

Las cifras corresponden a la media aritmética de las cuentas totales de actividad (mas menos el error estándar) en cada grupo, medidas en un actímetro como se describe en el apartado II.4.3. Los asteriscos representan diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo control. Otros símbolos como en la Tabla I.

\*  $p < 0,05$

\*\*\*  $p < 0,001$

ma muy leve. En cuanto a los machos control sucede exactamente lo contrario, colocados en el aparato y sin experiencia previa de manipulación alguna su respuesta es de alta neofobia, que se traduce en una paralización de actividades durante la primera hora para ir poco a poco recuperando actividad (sobre todo exploración y juego) durante la segunda hora.

### III. 2.2.- Resultados obtenidos a los 40 días de edad.

Los resultados obtenidos en la prueba realizada a los 40 días de edad se ven reflejados en la figura 4.

El análisis estadístico realizado ha puesto de manifiesto que durante la primera hora aparecen diferencias debidas al sexo dentro de los grupos SC ( $p < 0,05$ ) y C ( $p < 0,05$ ) y que el tratamiento establece diferencias entre los grupos SC y C machos ( $p < 0,05$ ) y SC y C hembras ( $p < 0,01$ ).

En la segunda, tercera y cuarta hora no hay diferencias debidas al tratamiento entre los diferentes grupos experimentales y sólo aparecen diferencias debidas al sexo en la tercera hora en los grupos SSC ( $p < 0,001$ ) y SC ( $p < 0,01$ ).

En general a lo largo de las cuatro horas las hembras presentan una mayor actividad que los machos en todos los grupos estudiados y el hecho de que se haga significativa para dos grupos en la tercera hora lo consideramos como un suceso probablemente sin ninguna significación especial, pues en este punto son las hembras de los grupos SSC y SC las que elevan ligeramente su actividad, suceso que puede ser debido a pequeñas e irregulares oscilaciones en actividad que son inevitables en las ratas jóvenes cuando se las somete a pruebas de larga duración. Al no mantenerse las diferencias a lo largo de toda la prueba o al menos en una mayoría de puntos no podemos considerar como relevantes estas diferencias. Por

( $\times 10^{-3}$ )

C.T.A.

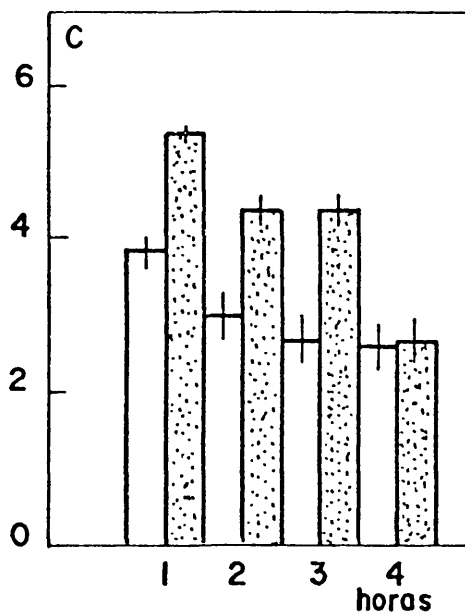
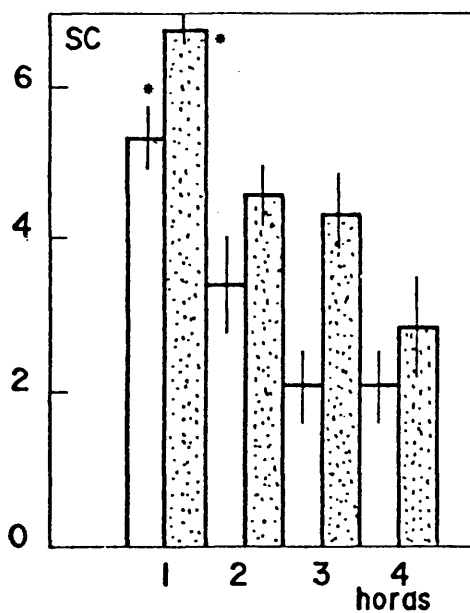
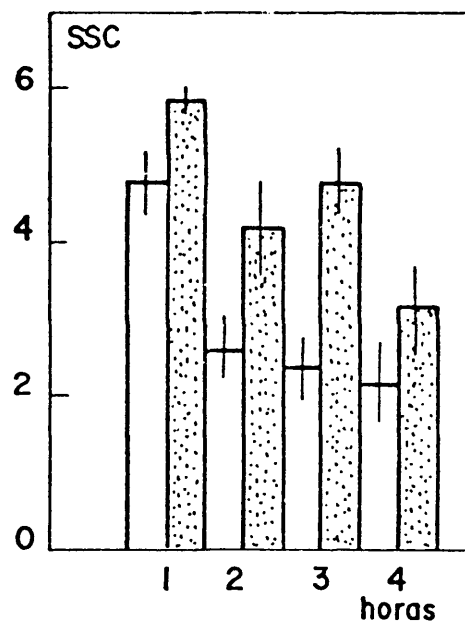
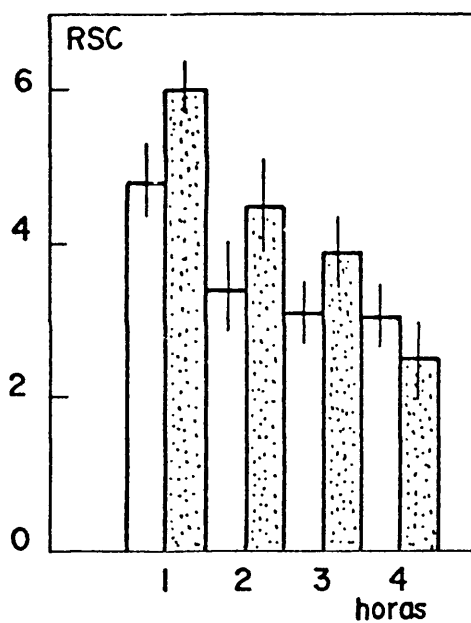


Figura 4.- Actividad espontánea general de los grupos experimentales a los 40 días de edad.

Condiciones y símbolos como en la figura 3.

TABLA IV

Actividad espontánea general de los grupos experimentales a los 40 días de edad

Grupo	1ª hora	2ª hora	3ª hora	4ª hora
C	3931 + 152	2995 + 283	2750 + 294	2605 + 270
♂ SC	*5329 + 352	3444 + 585	2144 + 458	2141 + 538
SSC	4792 + 445	2597 + 378	2374 + 447	2193 + 473
RSC	4755 + 365	3377 + 486	3055 + 375	3078 + 387
C	5392 + 129	4378 + 166	4391 + 163	2708 + 329
♀ SC	*6819 + 280	4629 + 448	4428 + 455	2927 + 732
SSC	5874 + 240	4237 + 590	4850 + 399	3238 + 628
RSC	5987 + 333	4989 + 570	3924 + 442	2478 + 531

Las cifras corresponden a las cuentas totales de actividad, registradas en un actímetro como se describe en el apartado II.4.3. Los asteriscos representan diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo control. El resto de los símbolos como en la Tabla I. (Para cada grupo se consigna la media aritmética mas menos el error estándar).

\*p < 0,05

lo que en general, y salvando esas pequeñas oscilaciones, podemos decir que no hay diferencias debidas al sexo ni al tratamiento a esta edad.

### III. 2.3.- Resultados obtenidos a los 80 días de edad.

A los 80 días de edad (figura 5), no hay diferencias debidas al sexo en ninguna de las cuatro horas de la prueba. Aparecen diferencias debidas al tratamiento entre RSC y C hembras en la primera hora ( $p < 0,001$ ), pero a lo largo de las tres horas restantes desaparecen todas las diferencias entre los grupos debidas al tratamiento.

### III. 2.4.- Resultados obtenidos a los 120 días de edad.

En la prueba realizada a los 120 días de edad el análisis es tadístico revela que no existe una mínima diferencia significativa, a lo largo de las cuatro horas de la prueba, entre los distintos grupos ni debidas al sexo ni debidas al tratamiento (figura 6).

Se ha encontrado que el desarrollo de una actividad diferente a lo largo de la prueba es común a todos los grupos y edades, tratándose en general, de un aumento de la actividad durante la primera hora (figuras 3,4,5 y 6).

Esta hiperactividad transitoria ha sido encontrada también en ratones (52,133,281). La interpretación posible de este fenómeno es que durante los primeros momentos de la prueba el ambiente nuevo y el aislamiento puede inducir una cierta situación de estrés y provocar una respuesta primero de fuga y luego exploratoria en la rata, produciéndose por lo tanto, un registro superior de actividad motora, como puede apreciarse en las figuras 4,5 y 6.

Pero conviene aclarar aquí que un animal emotivo, puede

( $\times 10^{-3}$ )

C.T.A.

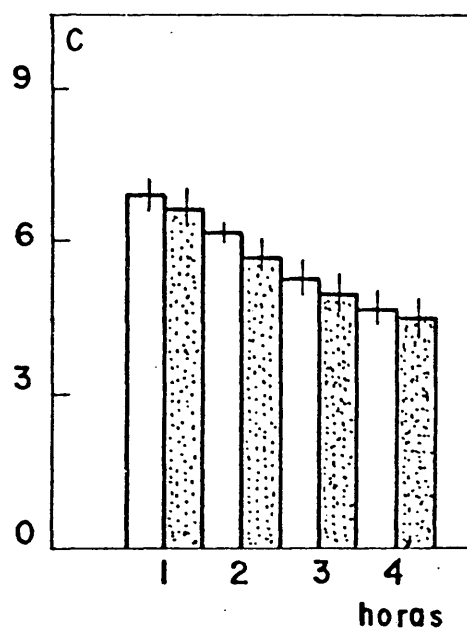
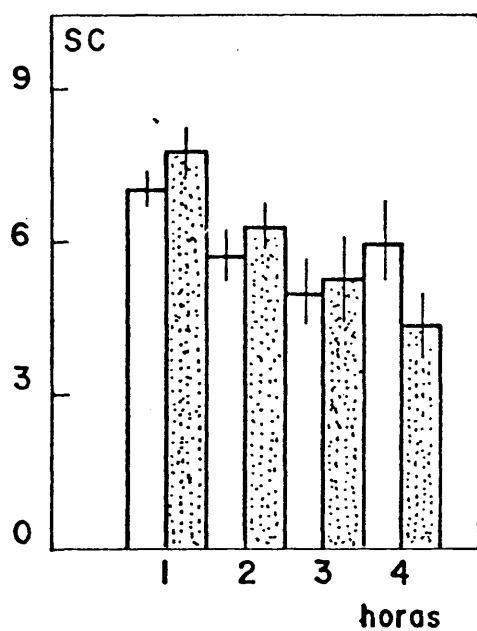
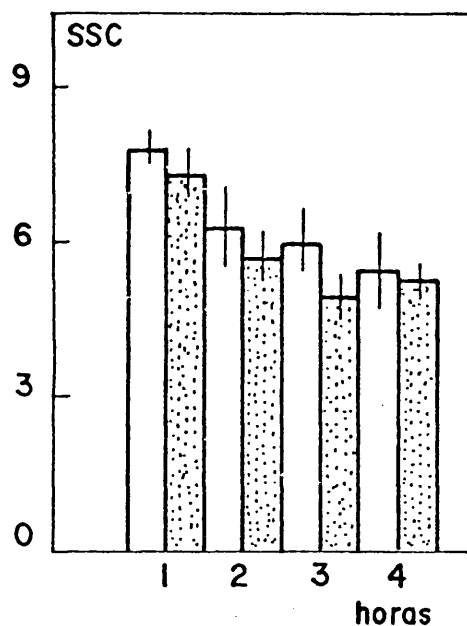
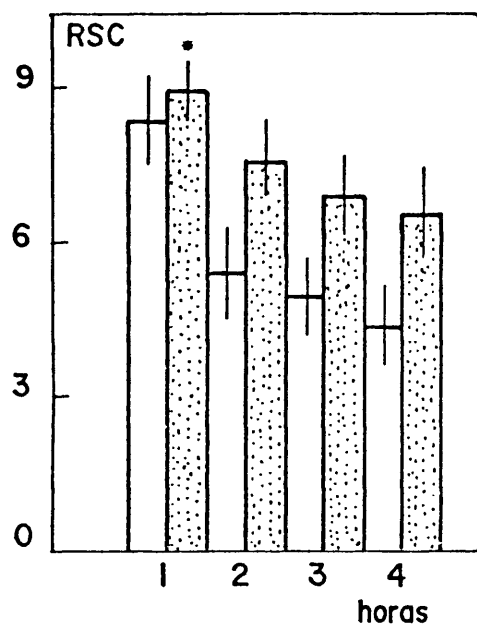


Figura 5.- Actividad espontánea general de los grupos experimentales a los 80 días de edad.

Condiciones y símbolos como en la figura 3.



TABLA V

Actividad espontánea general de los grupos experimentales a los 80 días de edad

Grupo	1ª hora	2ª hora	3ª hora	4ª hora
♂	C 6957 ± 301	6082 ± 189	5248 ± 335	4625 ± 368
	SC 7022 ± 334	5767 ± 412	5009 ± 571	4533 ± 580
	SSC 7740 ± 295	6239 ± 759	6054 ± 541	5447 ± 693
	RSC 8429 ± 909	5471 ± 858	4948 ± 813	4392 ± 807
♀	C 6526 ± 300	5721 ± 340	4986 ± 319	4489 ± 320
	SC 7863 ± 406	6322 ± 520	5314 ± 677	4380 ± 690
	SSC 7354 ± 417	6246 ± 495	4896 ± 493	5305 ± 338
	RSC *9014 ± 543	7678 ± 732	6923 ± 812	6668 ± 862

Las cifras corresponden a la media aritmética de las cuentas totales de actividad (mas menos el error estándar) en cada grupo, medidas en un actímetro como se describe en el apartado II.4.3. Los asteriscos representan diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo control. Otros símbolos como en la Tabla I.

\*p < 0,05

( $\times 10^{-3}$ )

C.T.A.

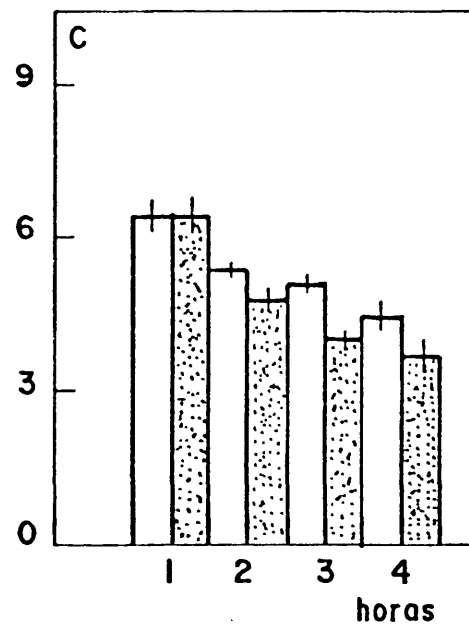
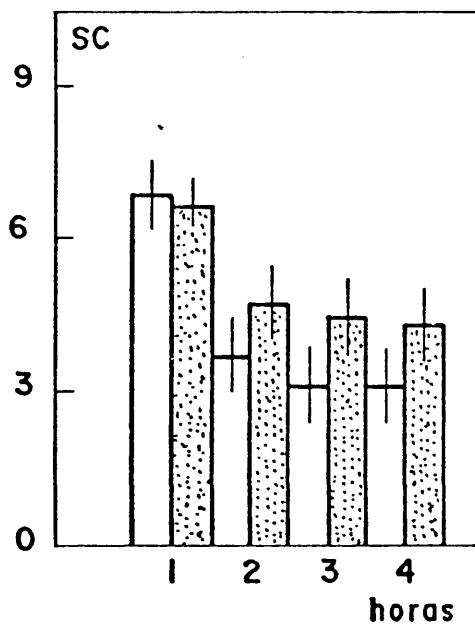
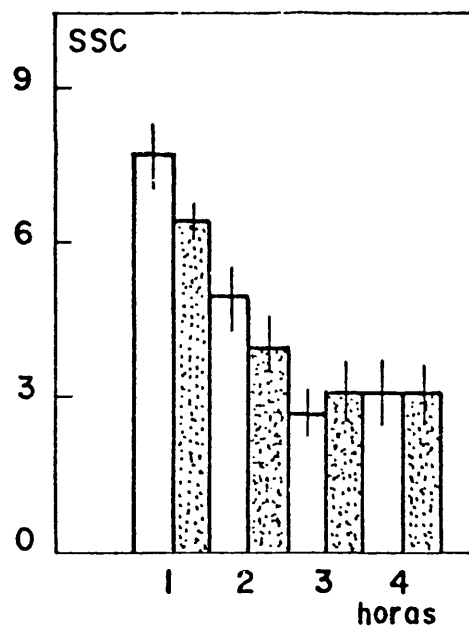
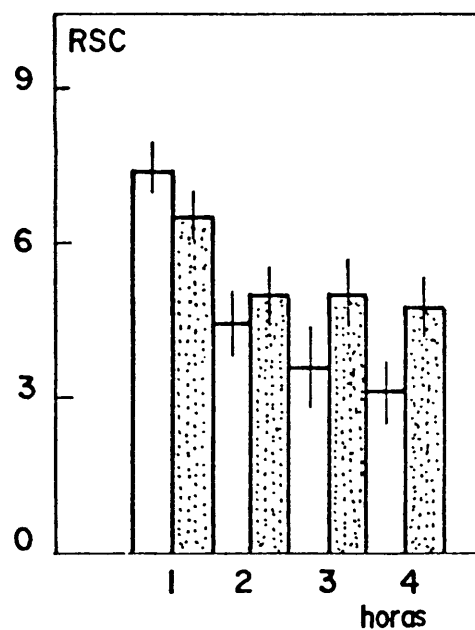


Figura 6.- Actividad espontánea general de los grupos experimentales a los 120 días de edad.

Condiciones y símbolos como en la figura 3.

TABLA VI

Actividad espontánea general de los grupos experimentales a los 120 días de edad

Grupo	1ª hora	2ª hora	3ª hora	4ª hora
C	6422 + 250	5385 + 188	5102 + 165	4566 + 260
SC	6909 + 656	3774 + 789	3122 + 752	3163 + 679
SSC	7798 + 610	4964 + 648	2741 + 519	3112 + 627
RSC	7557 + 461	4448 + 603	3545 + 781	3210 + 597
C	6385 + 249	4812 + 214	4043 + 213	3805 + 284
SC	6798 + 487	4798 + 739	4570 + 813	4359 + 817
SSC	6489 + 372	4040 + 654	3145 + 606	3194 + 669
RSC	6616 + 429	5059 + 555	5094 + 557	4845 + 653

Las cifras corresponden a la media aritmética de las cuentas totales de actividad (mas menos el error estándar) en cada grupo, medidas en un actímetro como se describe en el apartado II.4.3. Otros símbolos como en la Tabla I.

reaccionar ante una situación de estrés, tanto con una reacción de fuga como con una paralización, atreviéndose apenas a desplazarse, es más, si la situación adversa se afronta no individualmente sino en grupo, como ocurre en la prueba de actímetro a los 23 días de edad, la respuesta al estrés suele ser de agrupamiento (112,133,281), lo que conllevaría a unos registros menores de la actividad motora y a medida que los animales se adaptaran a las condiciones experimentales la respuesta neofóbica iría desapareciendo hasta extinguirse, como es el caso de los machos control y puede verse en la figura 3.

En esta prueba las hembras han desplegado, en general, una mayor actividad que los machos pero no alcanzan casi nunca niveles que supongan diferencias estadísticamente significativas.

Estas diferencias en actividad pueden estar directamente relacionadas con la intensidad del estrés aplicado y no podrían ser debidas exclusivamente a una actividad "propia" de las hembras (13, 14) lo cual, si nuestra interpretación es correcta y una vez contrastada con otros resultados, reforzaría la concepción unitaria sobre la emotividad enunciada por Gray (117,120) y apoyada por otros trabajos realizados en este laboratorio (133).

Por otra parte, el estrés de muy baja intensidad que entraña esta prueba (neofobia) no ha sido suficiente, en la mayoría de los casos, para inducir diferencias significativas entre los grupos experimentales, diferencias que sí aparecen en otras pruebas que implican niveles superiores de estrés.

### III. 3.- PRUEBA DE CAMPO ABIERTO.

#### III. 3.1.- Resultados obtenidos a los 40 días de edad.

Los resultados obtenidos se ven representados en las figuras 7 y 8 y en las Tablas VII-IX.

A esta edad no hemos encontrado diferencias significativas debidas al sexo en ninguna de las variables medidas.

Tampoco hemos encontrado ninguna diferencia significativa de bida al tratamiento entre ningún grupo, pero sí hemos observado que en las variables de D.E. y D.I. aparecen ciertas tendencias en el sentido de que los grupos experimentales de machos (RSC, SSC y SC) presentan valores más altos que los del control, mientras que en A.R. y T.I. los valores presentados por estos mismos grupos son más bajos. .

En los grupos de hembras no aparecen diferencias significativas en ninguna variable excepto en D.I., dónde el grupo SSC pre senta un valor muy alto que le hace diferir de los otros tres gru pos, respecto a RSC y C ( $p < 0,01$ ) y respecto a SC ( $p < 0,05$ ). .

#### III. 3.2.- Resultados obtenidos a los 80 días de edad.

Los datos obtenidos se expresan en las figuras 9 y 10.

Hemos encontrado diferencias sexuales entre los grupos control machos y hembras, en todas las variables estudiadas: D.E. ( $p < 0,001$ ), D.I. ( $p < 0,001$ ), P.E. ( $p < 0,001$ ), A.R. ( $p < 0,001$ ), T.I. ( $p < 0,05$ ), Def. ( $p < 0,001$ ) y M. ( $p < 0,01$ ). En las tres primeras con valores mayores para el grupo de hembras y en las cuatro restantes con valores más bajos respecto al grupo de machos. Los gru pos tratados neonatalmente han presentado diferencias sexuales: RSC en D.E. ( $p < 0,05$ ), SSC en D.E. ( $p < 0,001$ ) y D.I. ( $p < 0,01$ ) y SC en P.E. ( $p < 0,01$ ) y Def. ( $p < 0,001$ ); a favor de valores más altos en las hembras en D.E., D.I. y P.E. y menores en Def.

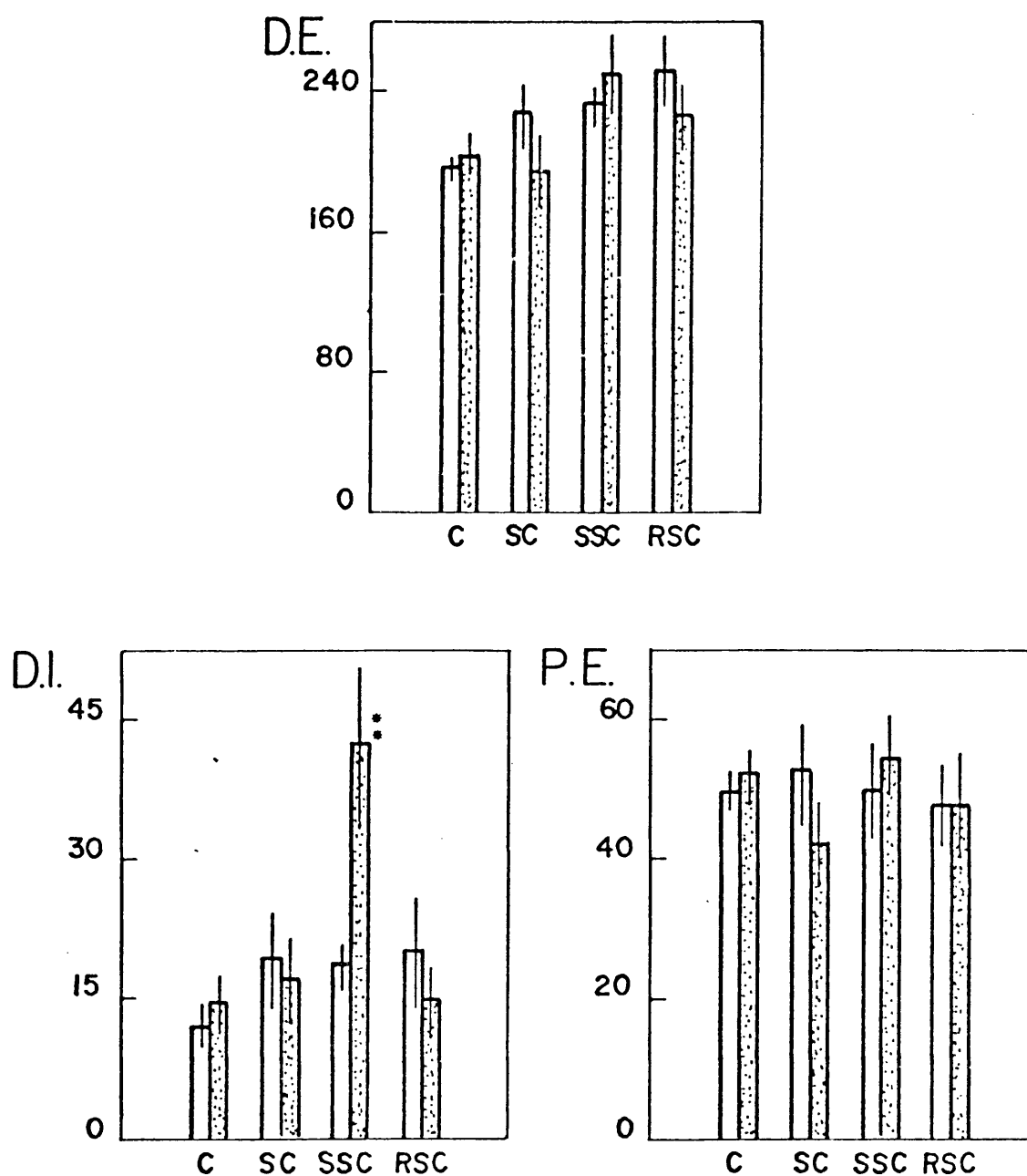


Figura 7.- Comportamiento de los distintos grupos experimentales en el campo abierto a los 40 días de edad.

Las pruebas de campo abierto se realizaron como se describe en el apartado II.4.4. Las variables representadas son la deambulación externa (D.E.), la deambulación interna (D.I.) y el número de posturas erguidas (P.E.). La altura de cada barra es proporcional al valor medio de la variable en cada grupo experimental. Cada línea vertical corresponde a un error estándar. Las barras blancas corresponden a los individuos machos y las punteadas a las hembras. Otros símbolos como en la Tabla I.

\* $p < 0,05$

\*\* $p < 0,01$

\*\*\* $p < 0,001$

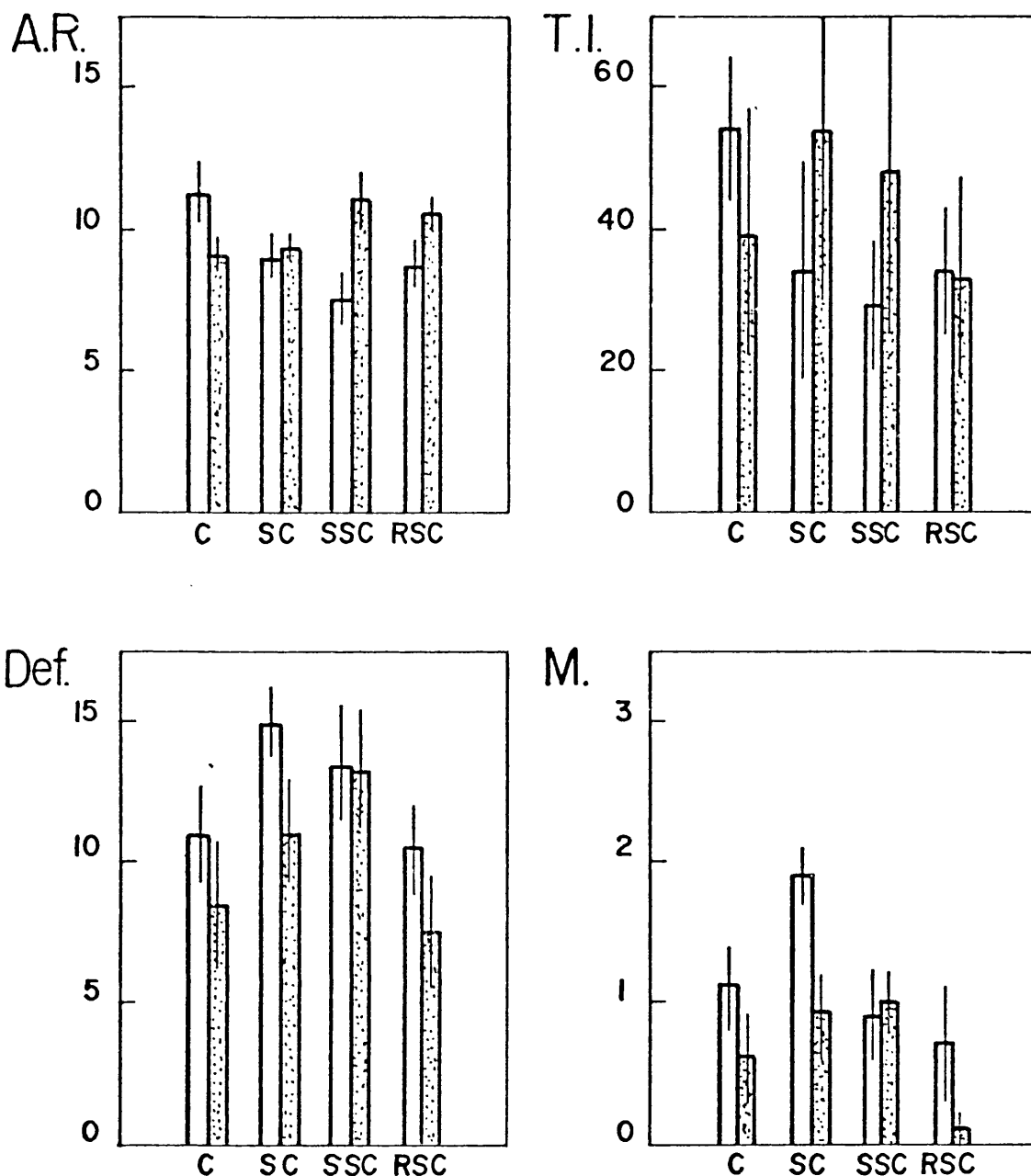


Figura 8.- Comportamiento de los distintos grupos experimentales en el campo abierto a los 40 días de edad.

Las variables representadas son el atusamiento rostral (A.R.), el tiempo de inmovilidad (T.I.), el número de defecaciones (Def.) y el número de micciones (M). Las condiciones y símbolos son como en la figura 7.

TABLA VII

Comportamiento de los grupos experimentales en el campo abierto a los 40 días de edad

Grupo	D.E.	D.I.	P.E.	A.R.	T.I.	Def.	M.
C	195 ± 5	12 ± 2	50 ± 4	11 ± 1	54 ± 10	11 ± 2	1 ± 0
SC	227 ± 18	19 ± 6	53 ± 7	9 ± 1	34 ± 15	15 ± 1	2 ± 0
SSC	236 ± 14	19 ± 2	50 ± 7	8 ± 1	29 ± 9	14 ± 2	1 ± 0
RSC	252 ± 21	20 ± 6	48 ± 6	9 ± 1	34 ± 9	11 ± 2	1 ± 0
C	205 ± 14	15 ± 3	52 ± 4	9 ± 1	39 ± 18	8 ± 2	1 ± 0
SC	196 ± 18	17 ± 5	42 ± 6	9 ± 1	54 ± 24	11 ± 2	1 ± 0
SSC	253 ± 24	**43 ± 10	55 ± 6	11 ± 1	48 ± 23	13 ± 2	1 ± 0
RSC	229 ± 18	15 ± 4	48 ± 7	10 ± 1	33 ± 14	8 ± 2	0 ± 0

Las cifras corresponden al valor medio en cada grupo (mas menos el error estándar) de las variables "deambulación externa" (D.E.), "deambulación interna" (D.I.), "postura erguida" (P.E.), "atusamiento rostral" (A.R.), "tiempo de inmovilidad" (T.I.), "defecación" (Def.) y "micción" (M.), medidas en el aparato de campo abierto como se describe en la sección II.4.4. Otros símbolos como en la Tabla I. Los asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo control.

\*p < 0,05

\*\*p < 0,01

\*\*\*p < 0,001



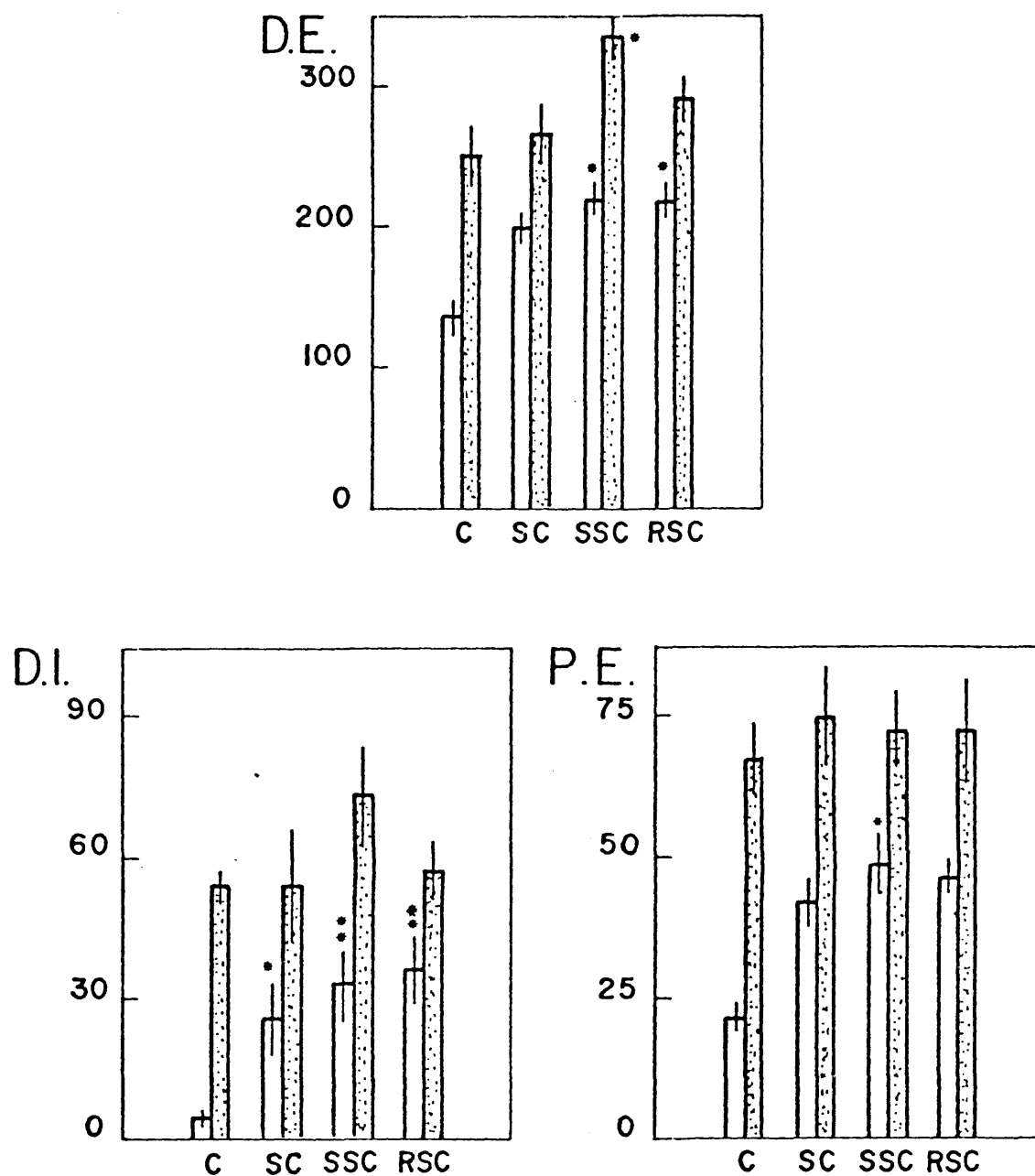


Figura 9.- Comportamiento de los distintos grupos experimentales en el campo abierto a los 80 días de edad.

Las variables representadas son la deambulación externa (D.E.), la deambulación interna (D.I.) y el número de posturas erguidas (P.E.). Condiciones y símbolos como en la figura 7.

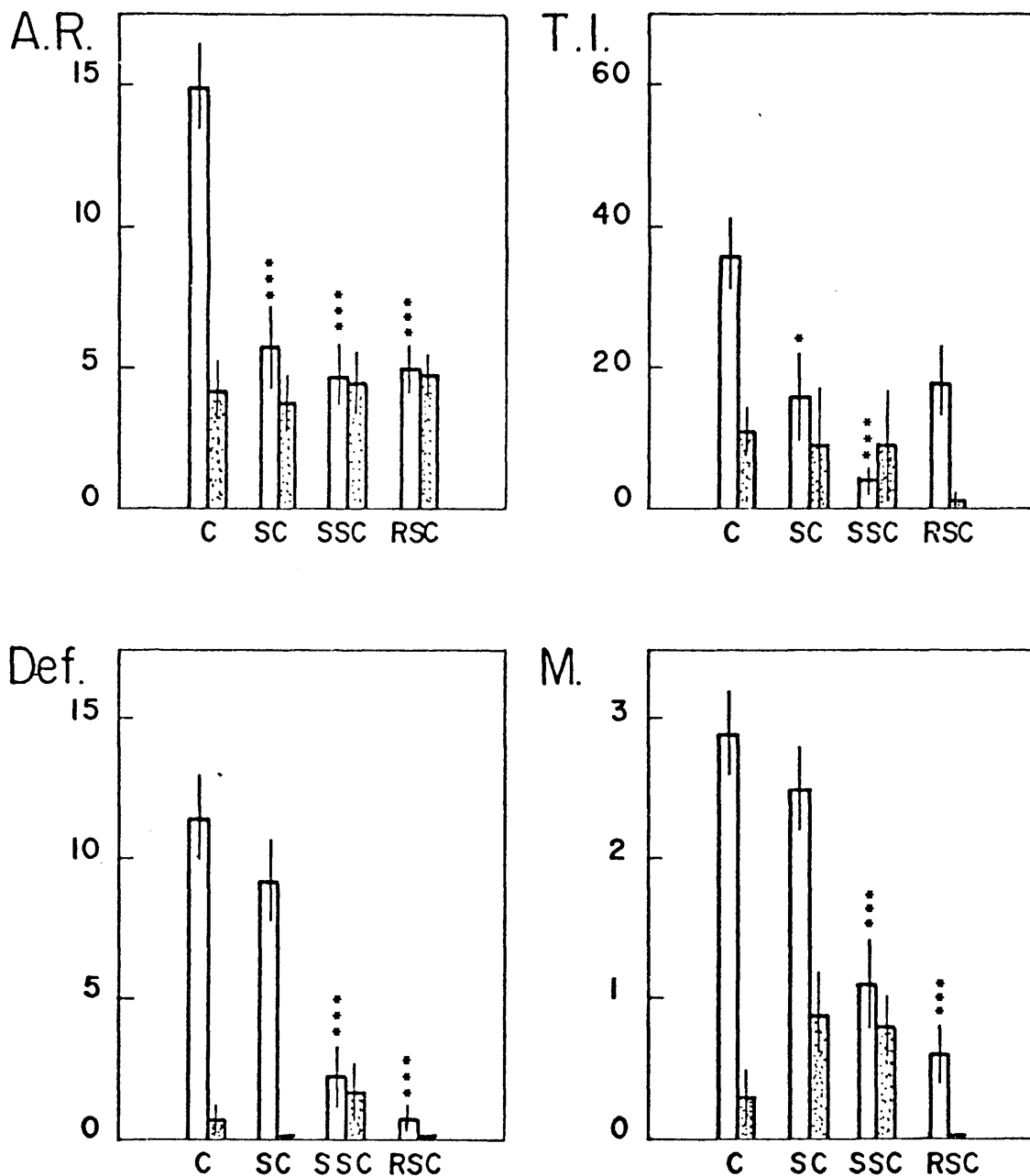


Figura 10.- Comportamiento de los distintos grupos experimentales a los 80 días de edad en el campo abierto.

Las variables representadas son el atusamiento rostral (A.R.) el tiempo de inmovilidad (T.I.) , el número de defecaciones (Def.) y el número de micciones (M). Condiciones y símbolos como en la figura 7.

TABLA VIII

Comportamiento de los grupos experimentales en el campo abierto a los 80 días de edad

Grupo	D.E.	D.I.	P.E.	A.R.	T.I.	Def.	M.
C	136 ± 8	4 ± 1	21 ± 3	15 ± 1	36 ± 5	11 ± 1	3 ± 0
SC	198 ± 12	*25 ± 7	42 ± 4	***6 ± 1	*16 ± 6	9 ± 1	3 ± 0
SSC	*222 ± 11	**33 ± 6	*49 ± 6	***5 ± 1	***4 ± 2	***2 ± 1	***1 ± 0
RSC	*217 ± 11	**35 ± 7	46 ± 3	***5 ± 1	18 ± 5	***1 ± 0	***1 ± 0
C	249 ± 22	54 ± 3	68 ± 6	4 ± 1	11 ± 3	1 ± 1	0 ± 0
SC	265 ± 18	55 ± 12	75 ± 9	4 ± 1	9 ± 8	0 ± 0	1 ± 0
SSC	*336 ± 25	74 ± 11	72 ± 6	5 ± 1	9 ± 8	2 ± 1	1 ± 0
RSC	292 ± 16	57 ± 7	69 ± 8	5 ± 1	1 ± 1	0 ± 0	0 ± 0

Condiciones y símbolos como en la Tabla VII.

\*p < 0,05

\*\*p < 0,01

\*\*\*p < 0,001

En cuanto a las diferencias debidas al tratamiento hemos encontrado que los grupos de machos RSC y SSC difieren del control, presentando en general valores más altos para las variables que suponen una actividad motora espontánea y de exploración, y más bajos en aquellas variables que expresan indirectamente una mayor carga emotiva. En concreto hemos obtenido diferencias del grupo RSC respecto al control en D.E. ( $p < 0,05$ ), D.I. ( $p < 0,01$ ), A.R. ( $p < 0,001$ ), Def. ( $p < 0,001$ ) y M. ( $p < 0,001$ ) y del grupo SSC respecto al control en D.E. ( $p < 0,05$ ), D.I. ( $p < 0,01$ ), P.E. ( $p < 0,05$ ), A.R. ( $p < 0,001$ ), T.I. ( $p < 0,001$ ), Def. ( $p < 0,001$ ) y M. ( $p < 0,001$ ).

El grupo RSC presenta una fuerte tendencia en la variable P.E., con valores más altos que el control pero no llegan a ser significativos, lo mismo ocurre en el T.I., pero en este caso presentando valores más bajos que el control.

Los grupos RSC y SSC también difieren del grupo SC en Def. y M., presentando ambos valores más bajos en los dos parámetros. Las diferencias obtenidas en el caso del grupo RSC son : Def. ( $p < 0,01$ ) y M. ( $p < 0,001$ ) y para SSC: Def. ( $p < 0,001$ ) y M. ( $p < 0,01$ ).

Por otra parte el grupo SC presenta diferencias respecto al control en D.I. ( $p < 0,05$ ), en A.R. ( $p < 0,001$ ) y T.I. ( $p < 0,05$ ).

En cuanto a las hembras hemos encontrado que el tratamiento no es significativo en ninguna de las variables, con una excepción, la de las hembras SSC que difieren de los controles en D.E. ( $p < 0,05$ ).

### III. 3.3.- Resultados obtenidos a los 120 días de edad.

Los datos de la prueba correspondientes a esta edad se representan en las figuras 11 y 12.

A esta edad aparecen diferencias sexuales entre los grupos control machos y hembras en todas las variables, presentando las hembras valores más altos en D.E. ( $p < 0,001$ ), D.I. ( $p < 0,001$ ) y P.E. ( $p < 0,001$ ) y más bajos en A.R. ( $p < 0,001$ ), T.I. ( $p < 0,001$ ), Def. ( $p < 0,001$ ) y M. ( $p < 0,001$ ).

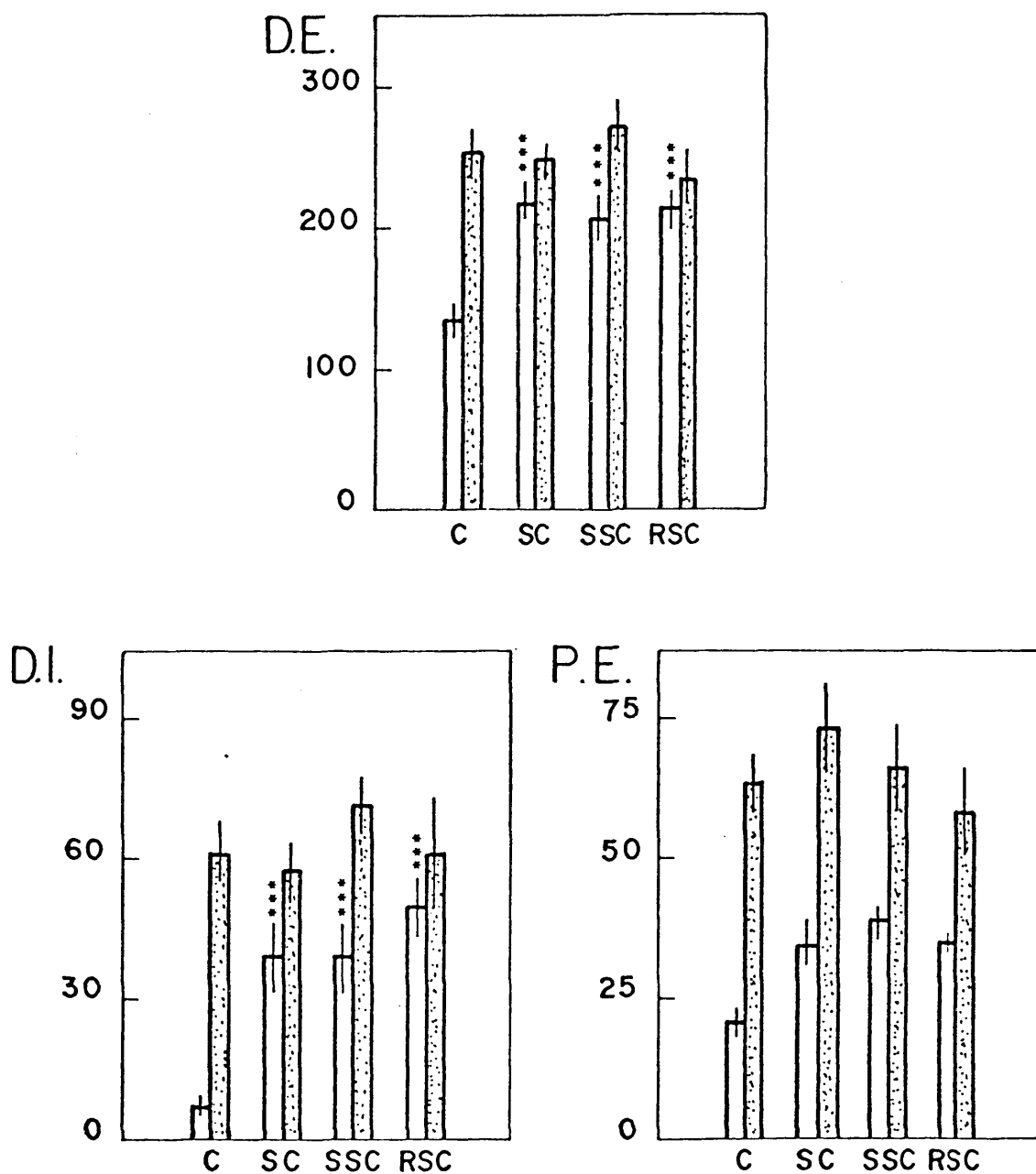


Figura 11.- Comportamiento de los distintos grupos experimentales en el campo abierto a los 120 días de edad.

Las variables representadas son la deambulación externa (D.E.), la deambulación interna (D.I.) y el número de posturas erguidas (P.E.). Condiciones y símbolos como en la figura 7.

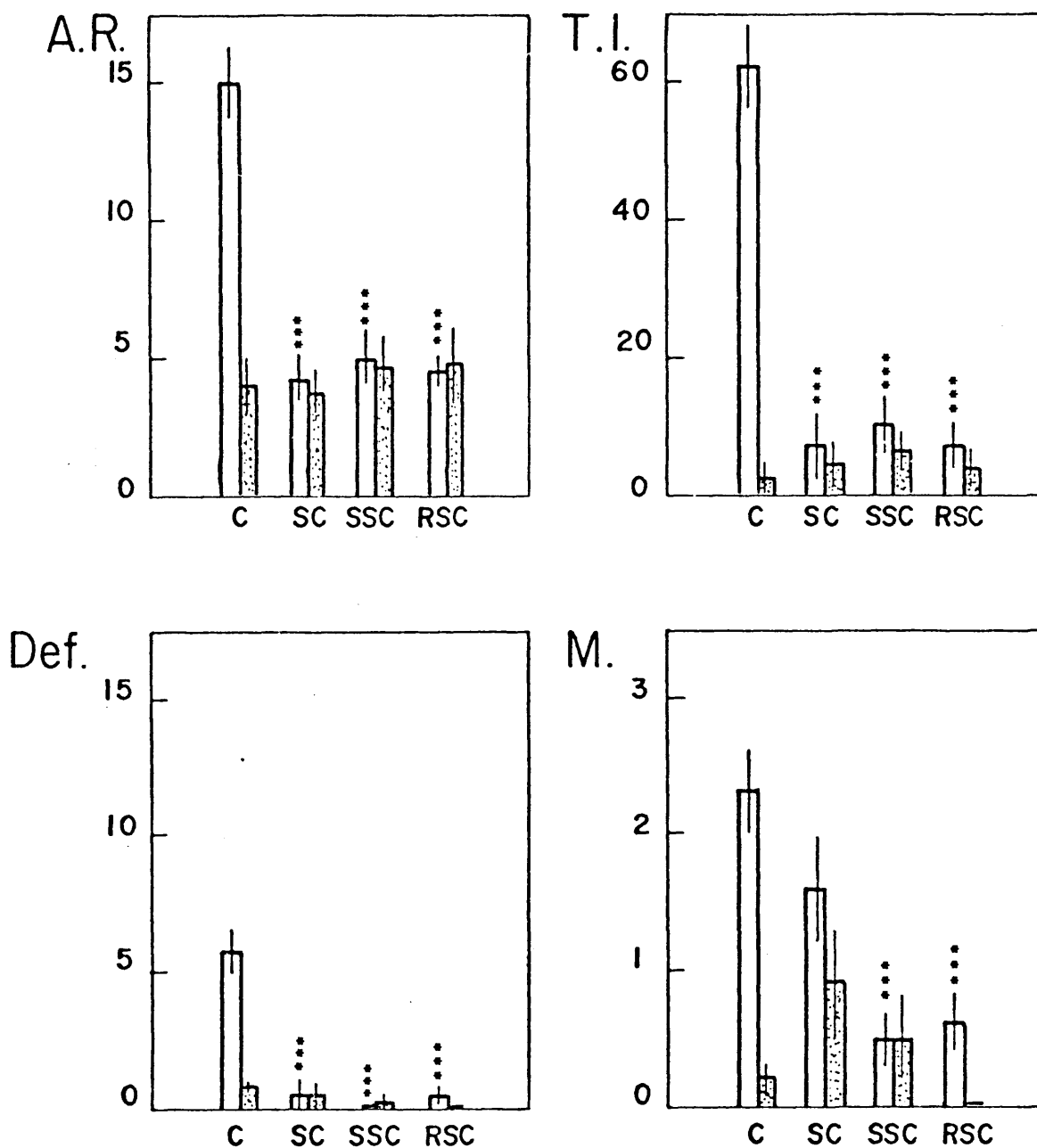


Figura 12.- Comportamiento de los distintos grupos experimentales en el campo abierto a los 120 días de edad.

Las variables representadas son el atusamiento rostral (A.R.), el tiempo de inmovilidad (T.I.), el número de defecaciones (Def.) y el número de micciones (M). Condiciones y símbolos como en la figura 7.

TABLA IX

Comportamiento de los grupos experimentales en el campo abierto a los 120 días de edad

Grupo	D.E.	D.I.	P.E.	A.R.	T.I.	Def.	M.
C	136 + 12	7 + 1	22 + 2	15 + 1	62 + 6	6 + 1	2 + 0
SC	***221 + 10	***39 + 8	35 + 3	***4 + 1	***7 + 5	***1 + 0	2 + 0
SSC	***210 + 13	***38 + 7	39 + 3	***5 + 1	***10 + 4	***0 + 0	***1 + 0
RSC	***214 + 11	***49 + 5	36 + 2	***5 + 1	***7 + 3	***1 + 0	***1 + 0
C	255 + 11	62 + 7	63 + 5	4 + 1	2 + 2	1 + 1	0 + 0
SC	252 + 10	58 + 6	74 + 8	4 + 1	4 + 3	1 + 1	1 + 0
SSC	274 + 17	72 + 6	66 + 7	5 + 1	6 + 3	0 + 0	1 + 0
RSC	242 + 14	62 + 12	59 + 8	5 + 1	3 + 3	0 + 0	0 + 0

Condiciones y símbolos como en la Tabla VII.

\*p < 0,05

\*\*p < 0,01

\*\*\*p < 0,001

El grupo RSC no presenta diferencias sexuales en ninguna de las variables estudiadas. El grupo SSC presenta diferencias en D.E. ( $p < 0,05$ ), D.I. ( $p < 0,05$ ) y P.E. ( $p < 0,01$ ) siempre a favor de valores más altos en el grupo de hembras. El grupo experimental SC sólo ha presentado diferencias sexuales en P.E. ( $p < 0,001$ ), a favor de un mayor número de posturas erguidas en las hembras.

En cuanto a la influencia del tratamiento experimental a esta edad hemos obtenido diferencias entre los grupos de machos RSC, SSC y SC respecto al control en D.E. ( $p < 0,001$ ), D.I. ( $p < 0,001$ ), A.R. ( $p < 0,001$ ), T.I. ( $p < 0,001$ ) y Def. ( $p < 0,001$ ), con la misma significación estadística para los tres grupos. Además hemos encontrado que tanto RSC como SSC difieren del control en M. ( $p < 0,001$ , para ambos grupos ) y ninguno de los tres se diferencia del control en P.E.

Por lo que respecta a los grupos de hembras podemos decir que no hemos encontrado diferencia alguna debida al tratamiento en ninguna de las variables medidas en esta prueba.

El hecho de que no hayamos encontrado diferencias ni entre sexos ni debidas a los tratamientos en la etapa prepuberal, aunque si se hayan manifestado unas claras tendencias que se han consolidado y mantenido en las etapas postpuberal temprana y adulta, nos hace plantearnos varias cuestiones:

- Los tratamientos neonatales parece que afectan más a los machos que a las hembras en este tipo de prueba de estrés moderado, de manera que las previsibles diferencias sexuales que se manifiestan desde la pubertad, se ven disminuídas a los 80 días y casi completamente anuladas a los 120 días.. En este sentido, los efectos del tratamiento neonatal aparecen con mayor nitidez en la edad adulta.
- Los machos ven seriamente afectados sus patrones característicos



de conducta exploratoria y emotiva en C.A., pareciéndose mucho más su comportamiento al que tendría una hembra.

- Los resultados obtenidos en los grupos de hembras no se diferencian, en general, de los presentados por las hembras control.

Los animales tratados neonatalmente parecen adaptarse de modo diferente a los controles al estrés de tipo medio que significa esta prueba; de este modo se obtienen valores más altos para los grupos experimentales en las variables que indican actividad exploratoria y valores menores en aquellos parámetros que configuran un índice indirecto del estado emotivo del individuo. De este modo podríamos decir que se adaptan mejor a este tipo de estrés, pero no hay que olvidar que este comportamiento sería "temerario" desde un punto de vista etológico (adaptativo).

Por otra parte, parece que tanto la alteración del medio físico + social como la alteración social por sí sola, han sido decisivas a la hora de producir cambios comportamentales en los individuos tratados. De modo que los tres tipos de alteración ambiental en la etapa neonatal han tenido efectos en esta prueba, en general en el mismo sentido, pero sin establecer diferencias estrictas entre los tres, sino más bien pareciéndose bastante, y en todos los casos siendo en esta prueba el macho el más afectado, demostrando una conducta semejante a la de las hembras (produciéndose una demasculinización).

### III. 4.- PRUEBA DE AGRESION INTRAESPECIFICA.

Los resultados obtenidos en las pruebas de agresión intraespecífica se representan en las figuras 13-16 y en las Tablas X-XI.

#### III. 4.1.- Resultados obtenidos a los 80 días de edad.

Los resultados obtenidos están representados en las figuras 13 y 14.

A esta edad aparecen diferencias sexuales en casi todos los grupos estudiados. El grupo control presenta diferencias sexuales en las variables tipo A ( $p < 0,001$ ), tipo B ( $p < 0,001$ ) y tipo C ( $p < 0,01$ ). El grupo SC presenta diferencias en las posturas tipo B ( $p < 0,05$ ) y tipo D ( $p < 0,05$ ) y finalmente en el grupo SSC existen diferencias sexuales en las posturas tipo A ( $p < 0,01$ ). Siendo en todos los casos los machos los que presentan valores más altos en las actividades agrupadas como tipo A, tipo B y tipo D y siendo siempre las hembras las que poseen los valores más altos en las actitudes tipo C.

En el grupo RSC no existen diferencias sexuales.

En cuanto a los efectos del tratamiento experimental en esta prueba hemos encontrado que los tres grupos de machos RSC, SSC y SC difieren del control en las posturas del tipo A ( $p < 0,001$ , con la misma significación estadística en los tres casos). En las posturas tipo B sólo el grupo RSC difiere significativamente del control ( $p < 0,001$ ), pero tanto SSC como SC presentan una tendencia, que no llega a ser significativa pero que merece la pena tenerla en consideración.

En las posturas tipo D sólo el grupo SC se diferencia del control ( $p < 0,05$ ) ya que presenta un valor relativamente elevado para

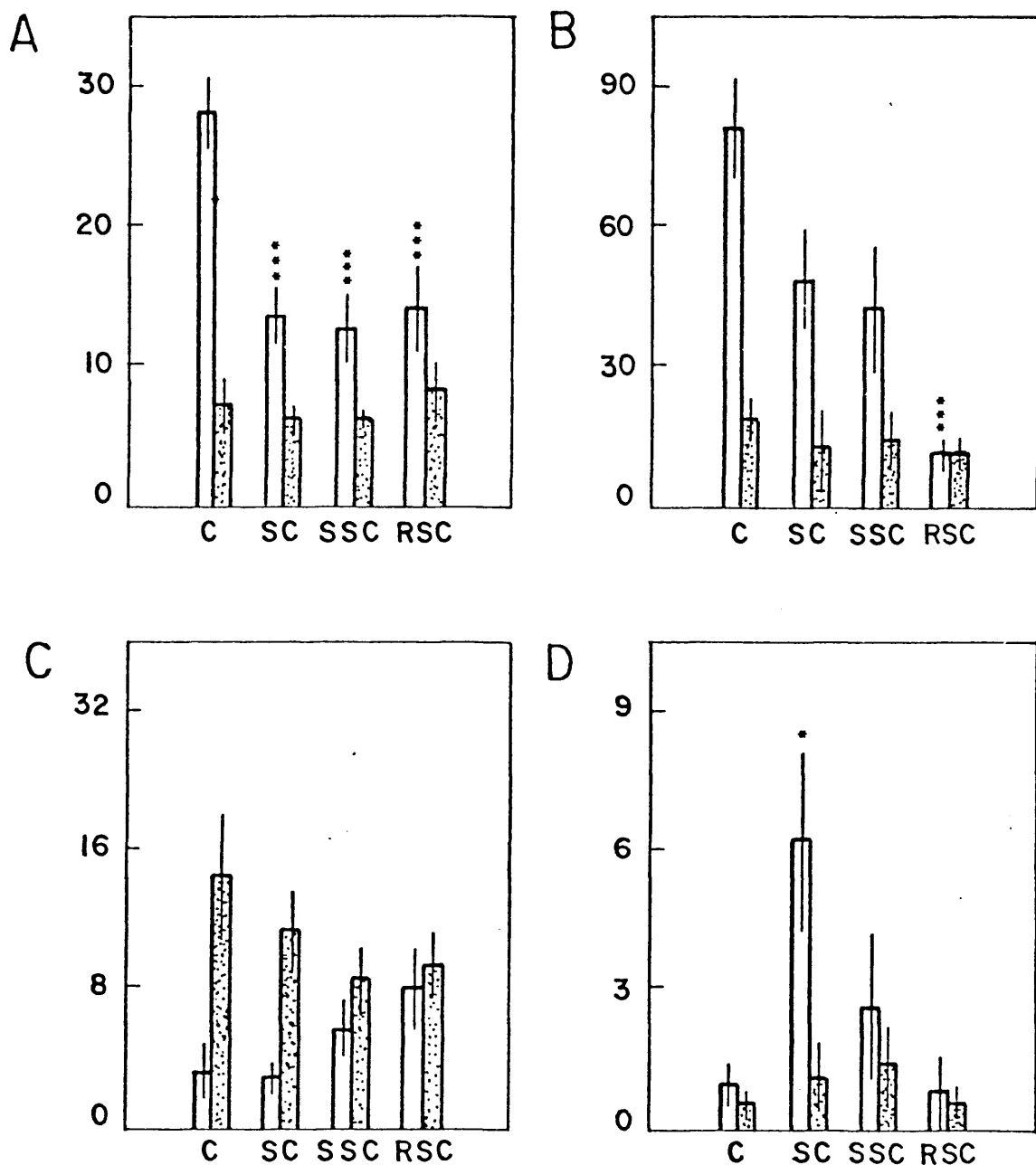


Figura 13.- Comportamiento agresivo intraespecífico de los distintos grupos experimentales a los 80 días de edad.

La descripción de las pruebas y la definición de las variables A, B, C y D se encuentran en el apartado II.4.5. y en la Tabla X. La altura de cada barra es proporcional al valor medio de cada variable experimental calculado para cada grupo de animales. Las barras blancas corresponden a los individuos machos y las punteadas a las hembras. Cada línea fina vertical equivale a un error estándar. El resto de los símbolos como en la Tabla I.

•  $p < 0,05$       ••  $p < 0,01$       •••  $p < 0,001$

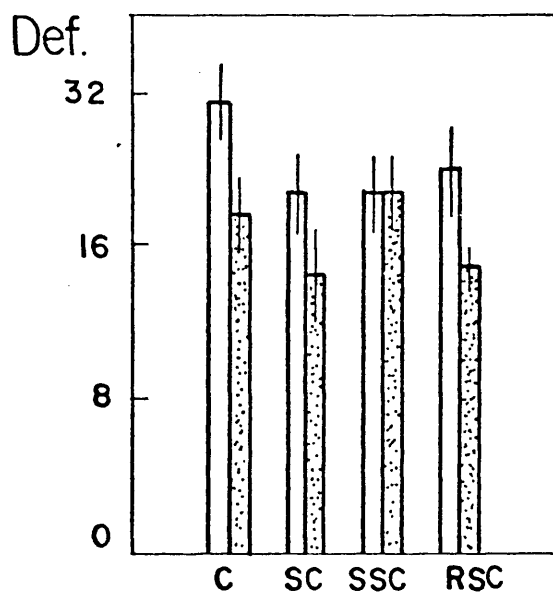
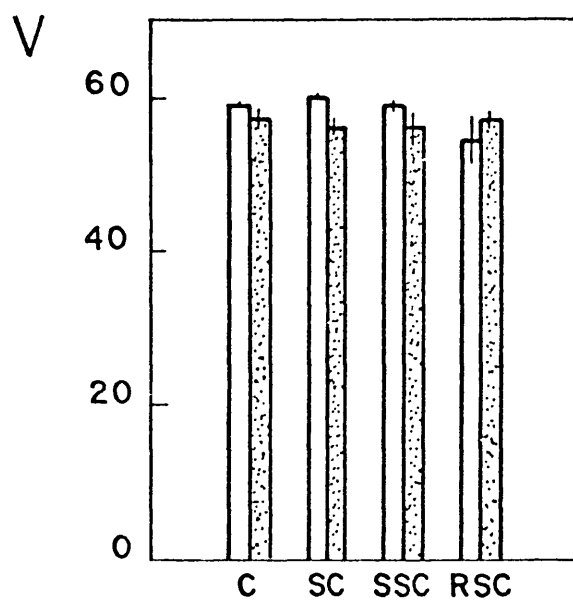


Figura 14.- Vocalizaciones (V) y defecaciones (Def.) contabilizadas durante las pruebas de agresión intraespecífica a los 80 días de edad.

Condiciones y símbolos como en la figura 13.

TABLA X

Comportamiento agresivo intraespecífico de los  
distintos grupos experimentales a los 80 días de edad

Grupo	Tipo A	Tipo B	Tipo C	Tipo D	V.	Def.
C	28 + 2	81 + 10	4 + 1	1 + 1	59 + 0	24 + 2
SC	***14 + 2	48 + 10	3 + 1	*6 + 2	59 + 0	19 + 2
SSC	***13 + 3	43 + 13	6 + 2	3 + 2	59 + 1	19 + 2
RSC	***14 + 3	***11 + 3	8 + 2	1 + 1	55 + 3	20 + 2
C	7 + 2	17 + 5	14 + 3	0 + 0	57 + 1	18 + 2
SC	6 + 1	13 + 8	11 + 2	1 + 1	56 + 1	14 + 2
SSC	3 + 1	13 + 7	8 + 2	1 + 1	56 + 2	19 + 2
RSC	8 + 2	10 + 4	9 + 2	1 + 0	57 + 1	15 + 1

Las cifras corresponden al número medio (mas menos el error estándar) de actitudes agresivas tipo A (amenaza, enfrentamiento), tipo B (boxeo, ataque, rechazo y lucha), tipo C (contacto físico), tipo D (dominancia/sumisión), al número de vocalizaciones (V) y al de defecaciones (Def.), observadas en las pruebas que se describen en el apartado II.4.5. Los asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo control. Otros símbolos como en la Tabla I.

\* p < 0,05

\*\* p < 0,01

\*\*\* p < 0,001

lo que cabía esperar.

En las actitudes del tipo C y en los parámetros de vocalización (V.) y defecación (Def.) no aparecen diferencias.

Respecto a los grupos de hembras, no hemos encontrado diferencias significativas en ningún tipo de posturas.

### III. 4.2.- Resultados obtenidos a los 120 días de edad.

Los datos correspondientes a la prueba realizada a esta edad están reflejados en las figuras 15 y 16.

En la edad adulta se mantienen básicamente los resultados, relativos a las diferencias sexuales entre los grupos, obtenidos a los 80 días. De manera que existen diferencias entre machos y hembras control en las posturas tipo A ( $p < 0,001$ ), tipo B ( $p < 0,001$ ) y tipo C ( $p < 0,05$ ). En el grupo SC hay diferencias sexuales en las posturas tipo B ( $p < 0,001$ ) y tipo C ( $p < 0,05$ ) y finalmente también hay diferencias entre machos y hembras del grupo SSC en las actitudes tipo A ( $p < 0,05$ ). Siendo nuevamente los machos los que presentan valores más altos en las posturas tipo A y tipo B y las hembras las que tienen valores más elevados en las posturas tipo C.

El grupo RSC no presenta diferencias sexuales en ninguno de los tipos de posturas estudiadas.

Por lo que se refiere a los efectos del tratamiento experimental podemos decir que ha sido sobre todo el grupo RSC machos el más afectado, pues hemos encontrado diferencias respecto al control en posturas tipo A ( $p < 0,001$ ) y tipo B ( $p < 0,001$ ), presentando valores medios por grupo, para ambas posturas, mucho más bajos que el grupo control. Dicho grupo RSC también presenta diferencias, en las posturas tipo B, respecto a los grupos SC ( $p < 0,001$ ) y SSC ( $p < 0,01$ ), teniendo también valores más bajos que dichos grupos.

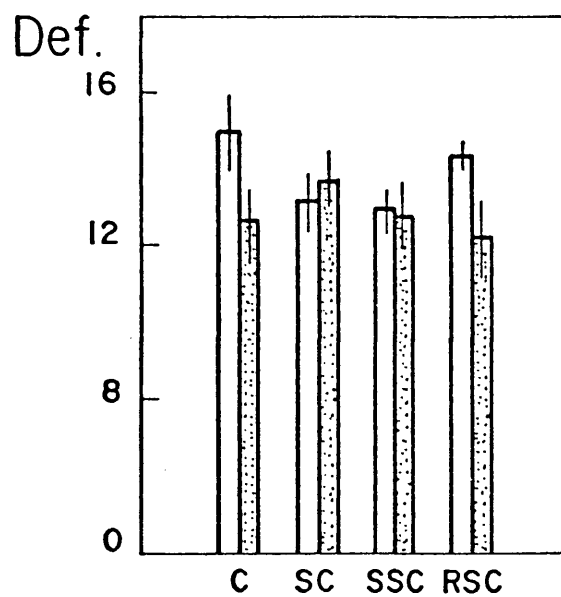
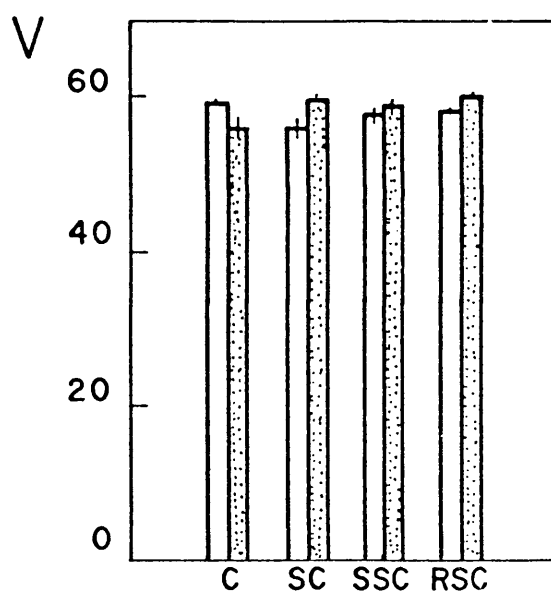


Figura 16.- Vocalizaciones (V) y defecaciones (Def.) contabilizadas durante las pruebas de agresión intraespecífica a los 120 días de edad.

Condiciones y símbolos como en la figura 13.

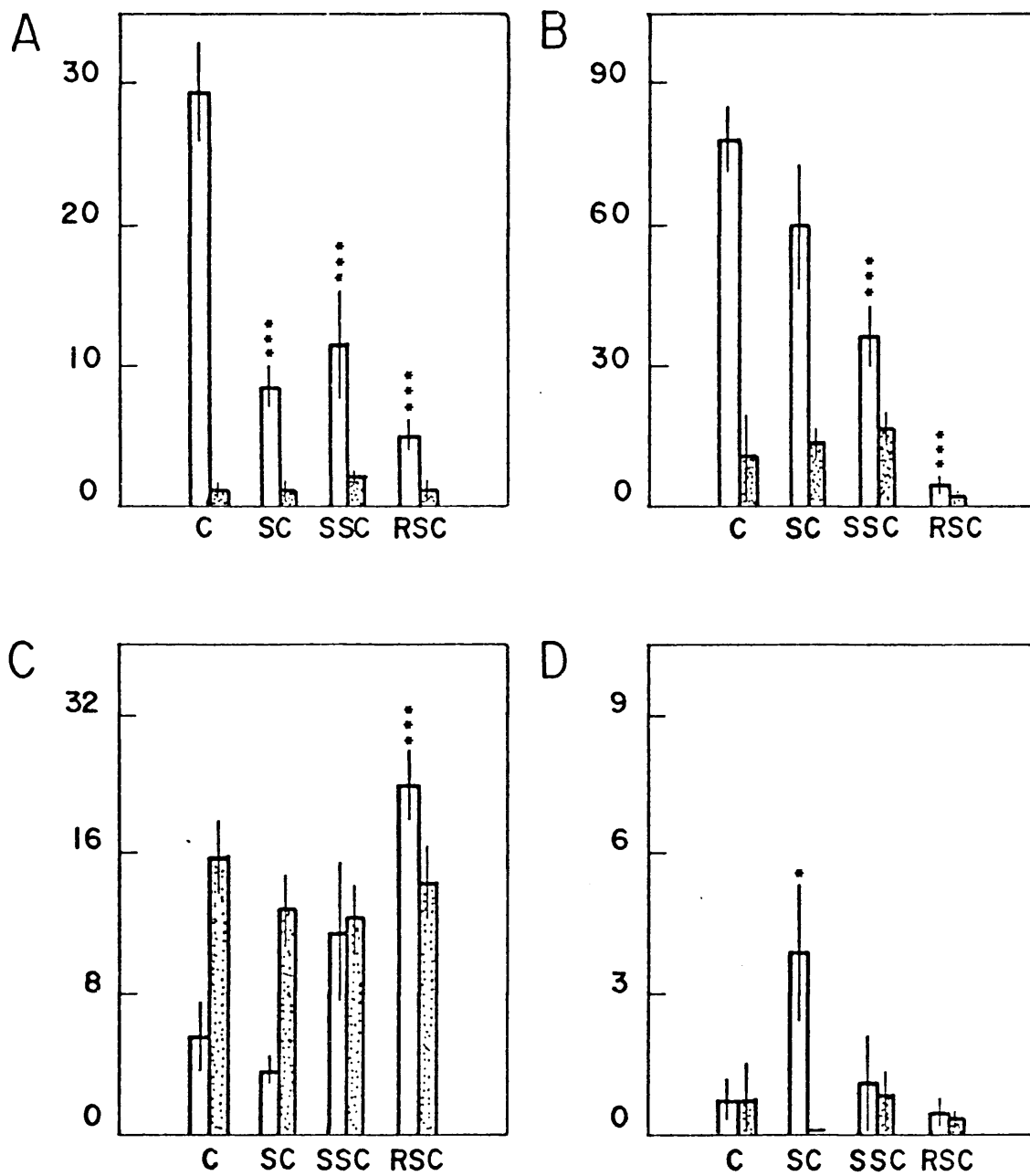


Figura 15.- Comportamiento agresivo intraespecífico de los distintos grupos experimentales a los 120 días de edad.

Condiciones y símbolos como en la figura 13.



TABLA XI

Comportamiento agresivo intraespecífico de los  
distintos grupos experimentales a los 120 días de edad

Grupo	Tipo A	Tipo B	Tipo C	Tipo D	V.	Def.
C	30 + 4	79 + 7	6 + 2	1 + 1	60 + 0	22 + 2
SC	***8 + 2	60 + 9	3 + 1	4 + 2	57 + 2	19 + 1
SSC	***11 + 4	***36 + 7	12 + 4	*1 + 1	58 + 1	18 + 1
RSC	***5 + 1	***4 + 2	***20 + 2	0 + 0	59 + 0	21 + 1
<hr/>						
C	1 + 0	11 + 5	16 + 2	1 + 1	56 + 1	17 + 2
SC	1 + 1	14 + 3	13 + 2	0 + 0	60 + 0	20 + 2
SSC	2 + 1	17 + 3	12 + 2	1 + 1	59 + 1	17 + 2
RSC	1 + 1	2 + 1	14 + 2	0 + 0	60 + 0	17 + 2

Condiciones y símbolos como en la Tabla X.

\* p < 0,05

\*\* p < 0,01

\*\*\* p < 0,001

Por lo que se refiere a las actitudes tipo C, el grupo RSC difirió de los SC ( $p < 0,001$ ) y control ( $p < 0,001$ ) presentando esta vez valores más altos.

Los grupos SSC y SC se han mostrado diferentes del control en las posturas del tipo A ( $p < 0,001$ , con la misma significación estadística en ambos casos) y el SSC también en las del tipo B ( $p < 0,001$ ), presentando en todos los casos los grupos experimentales valores menores que el control.

No hay diferencias debidas al tratamiento en las actitudes tipo D, excepto para el grupo SC que mantiene las diferencias encontradas a los 80 días, ni tampoco en los parámetros de V. y Def.

Por lo que respecta a las hembras no hemos encontrado diferencias significativas entre grupos experimentales y control, para ninguno de los grupos de variables estudiadas.

Hay que señalar, en primer lugar, que tanto en las pruebas de agresión intraespecífica realizadas a los 80 como a los 120 días de edad, aparecen diferencias entre los machos y hembras de todos los grupos experimentales a excepción del grupo RSC. Esta ausencia de diferencias sexuales podría deberse sobre todo al hecho de que los machos RSC parecen ser los más afectados por el tratamiento neonatal, de forma que sus pautas agresivas se distancian muy significativamente de las de los machos controles, aproximándose a las pautas de agresión de las hembras RSC que se han visto menos afectadas. En este sentido, conviene remarcar que el tratamiento RSC, consistente en la superposición de un estrés físico a uno social (separación parcial de la madre) durante el período de lactación, ha producido sus efectos más drásticos en los machos, los cuales presentan en época adulta una disminución muy significativa de las pautas agresivas tipo A y tipo B respecto a

los controles, aproximándose de esta forma a la conducta agresiva característica de las hembras. Estas han visto modificada en menor medida su conducta agresiva, que se ha visto afectada sobre todo por una tendencia a la disminución de las pautas de agresión de tipo B a los 120 días.

Por otra parte, los demás tratamientos neonatales utilizados en los grupos SC y SSC, consistentes en la separación parcial de la madre durante la lactación, se han visto también reflejados en una disminución de las pautas agresivas de tipo A y de tipo B con respecto al grupo control durante la edad adulta, resultado que nuevamente aparece en los machos pero no en las hembras.

Las pautas que hemos denominado tipo C (contacto físico) parecen también verse afectadas por los tratamientos neonatales, apareciendo diferencias a favor de los machos RSC con respecto a los grupos control y SC, lo cual viene a apoyar una interpretación no unitaria del comportamiento (2,200,201) así como a plantear la necesidad de establecer una clasificación rigurosa de las pautas agresivas acorde con dicha interpretación (112,113). La explicación más plausible de nuestros resultados debe encontrarse, por una parte, en la componente emocional muy importante que tiene la conducta agresiva (inducida en este caso por choque eléctrico), y que como comentamos en el apartado I.5.7. puede verse modificada como consecuencia de la aplicación de determinadas manipulaciones (físicas o sociales) del medio ambiente en la fase postnatal temprana (112,113,190,241,263), afectando decisivamente a la conducta agresiva. La manipulación neonatal debe ejercer una poderosa influencia en la maduración del eje hipotálamo-adenohipófisis-corteza adrenal (59,101,118,159,231), y en su actividad posterior. De esta manera son muchos los autores que han señalado como diferentes tratamientos neonatales afectan a la conducta agresiva. En términos generales parece aceptarse que dicha alteración en la res

puesta agresiva de los individuos se lleva a cabo a través de dos posibles mecanismos: bien estableciendo una alteración más o menos permanente del eje adrenal a cualquiera de los tres niveles (hipotálamo, adenohipófisis y/o corteza adrenal) o bien determinando algún cambio duradero en el estado de los circuitos nerviosos implicados en determinadas pautas de conducta agresiva. En nuestro caso, la influencia comentada anteriormente resulta más severa en el grupo RSC, y ha podido determinar las modificaciones en las pautas agresivas a través de su acción sobre la componente de estrés que dichas pautas implican.

Por otra parte, los tratamientos neonatales se han realizado en el llamado período crítico para la diferenciación hipotalámica (81,82) lo cual ha podido incidir sobre la actividad del eje hipotálamo-adenohipófisis-gonadal, especialmente en los machos que han visto de esta forma acentuados los efectos del tratamiento. En cualquier caso, esta hipótesis deberá ser corroborada con una mayor evidencia experimental en otras pruebas de comportamiento y de valoración endocrina.

### III. 5.- PRUEBA DE AGRESION INTERESPECIFICA.

Los resultados se representan en la Tabla XII.

Tanto en las pruebas muricidas realizadas a los 40 días, como a los 80 y 120 días de edad de los animales, no aparecen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes grupos experimentales. Esto puede deberse, en primer lugar, a las frecuencias anormalmente bajas que aparecen en todos los grupos, muy inferiores a las obtenidas en experimentos anteriores realizados en nuestro propio laboratorio ( 112,113 ). Este hecho refuerza la importancia de la influencia genética en este comportamiento que parece estrechamente ligada a la cepa de ratas que se utilice, como ya ha sido puesto de manifiesto por algunos autores (278).

En cualquier caso, es posible observar que el porcentaje de ratas que matan ratón es más alto siempre en los controles que en el resto de grupos experimentales. También puede apreciarse, dentro de los controles, un desarrollo más acelerado de la conducta muricida en los machos que en las hembras, lo cual ya ha sido señalado anteriormente (133) por otros autores.

Nuestros resultados parecen indicar que en ningún momento la manipulación neonatal ha inducido cambios significativos en la agresión interespecífica de los animales tratados. Estos resultados si se comparan con los obtenidos en la agresión intraespecífica parecen evidenciar que los mecanismos endocrinos implicados son distintos según sea el tipo de agresión que consideremos, con lo cual parece confirmarse la idea de que la agresión en la rata no debe ser entendida como un concepto unitario (200,201).

Nuestros resultados coinciden con los obtenidos por otros autores como Whelton y O'Boyle empleando ratones (286) quienes han

TABLA XII

Conducta muricida a lo largo de la vida de la rata

	animales muricidas (%)			nº total de animales
	40 d	30 d	120 d	
C	9,1	13,6	13,6	22
SC	0	0	0	22
0 → SSC	0	4,8	0	21
RSC	0	0	0	20
C	4,8	4,8	9,5	21
SC	0	0	0	22
0 + SSC	0	4,5	0	22
RSC	0	0	0	20

La conducta muricida se determinó según se describe en el apartado II. 4.6. de Material y Métodos.

d: días de vida de la rata. El resto de las símbolos como en la Tabla I.

encontrado que determinadas manipulaciones del medio ambiente neonatal inducían cambios en la agresión intraespecífica de los animales pero no se veía alterada la agresión depredatoria. Además Adamec y col. (1) estudiando la influencia de la manipulación del medio ambiente neonatal social sobre la conducta agresiva de los gatos han encontrado que dichas manipulaciones mejoran la pre disposición de los animales a la defensa mientras que no afectan a la conducta de agresión depredatoria.

Estas interpretaciones coinciden con las de otros autores que han encontrado diferentes mecanismos hormonales (133,156,159,231, 240) y neurofisiológicos (2,273) implicados en los diferentes tipos de agresión.

### III. 6.- PRUEBA DE CONDUCTA SEXUAL.

Los resultados obtenidos en las pruebas de conducta sexual se detallan en las figuras 17-25 y en las Tablas XIII-XVIII.

#### III. 6.1.- Resultados obtenidos a los 40 días de edad.

A los 40 días de edad no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes grupos, en ninguna de las actividades agrupadas en el tipo A (actitudes sexuales no-copulatorias), tipo B (actitudes sexuales copulatorias), tipo C (agresión) y tipo D (pseudoagresión), ni en los machos ni en las hembras. Tampoco hemos encontrado diferencias en el tiempo de emergencia (T.E.), atusamiento rostral (A.R.), vocalización (V) ni defecación (Def.). Con la única excepción de las vocalizaciones que están ligeramente aumentadas en el grupo RSC machos respecto a los controles ( $p < 0,05$ ).

#### III. 6.2.- Resultados obtenidos a los 80 días de edad.

Dentro de las actitudes agrupadas en el tipo A, hemos encontrado que a esta edad no hay diferencias entre los machos en las denominadas A1 y A2 (olfateos + lamidadas y persecuciones, respectivamente). Dentro de estas pautas de conducta encontramos que entre los grupos de hembras tampoco hay diferencias en A1, pero sí aparecen en A2 entre RSC y C ( $p < 0,001$ ) y SSC y C ( $p < 0,05$ ), siendo en ambos grupos experimentales RSC y SSC mucho menores los valores obtenidos en persecuciones (A2).

Por lo que respecta al tipo de comportamiento denominado A3 (intentos de monta) en los machos, no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas, pero sí se observa una clara tendencia entre los grupos, que se traduce en unos valores muy bajos para RSC y SSC respecto al Control, mientras que el grupo SC pre-

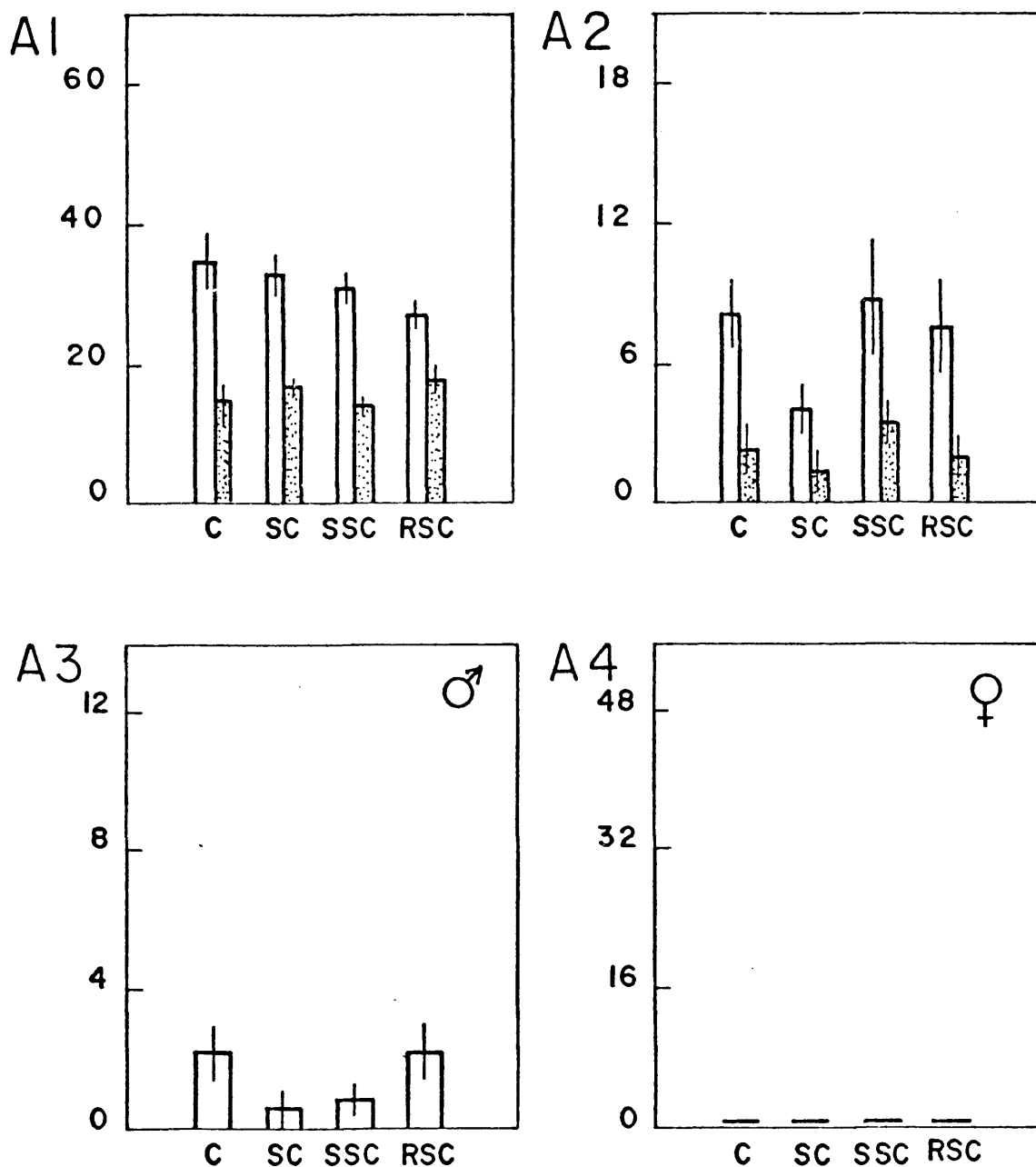


Figura 17.- Comportamiento sexual de los distintos grupos experimentales a los 40 días de edad.

Las pruebas se realizaron como se describe en el apartado II.4.7. La altura de las barras verticales es proporcional al número medio de olfateos y lamidas (A1), persecuciones (A2), intentos de monta por parte del macho (A3) y de saltos de flecha de la hembra (A4) en cada grupo experimental. Las barras blancas corresponden a los machos y las punteadas a las hembras. Cada línea vertical fina representa el error estándar. El resto de los símbolos como en la Tabla I.

•  $p < 0,05$

••  $p < 0,01$

•••  $p < 0,001$



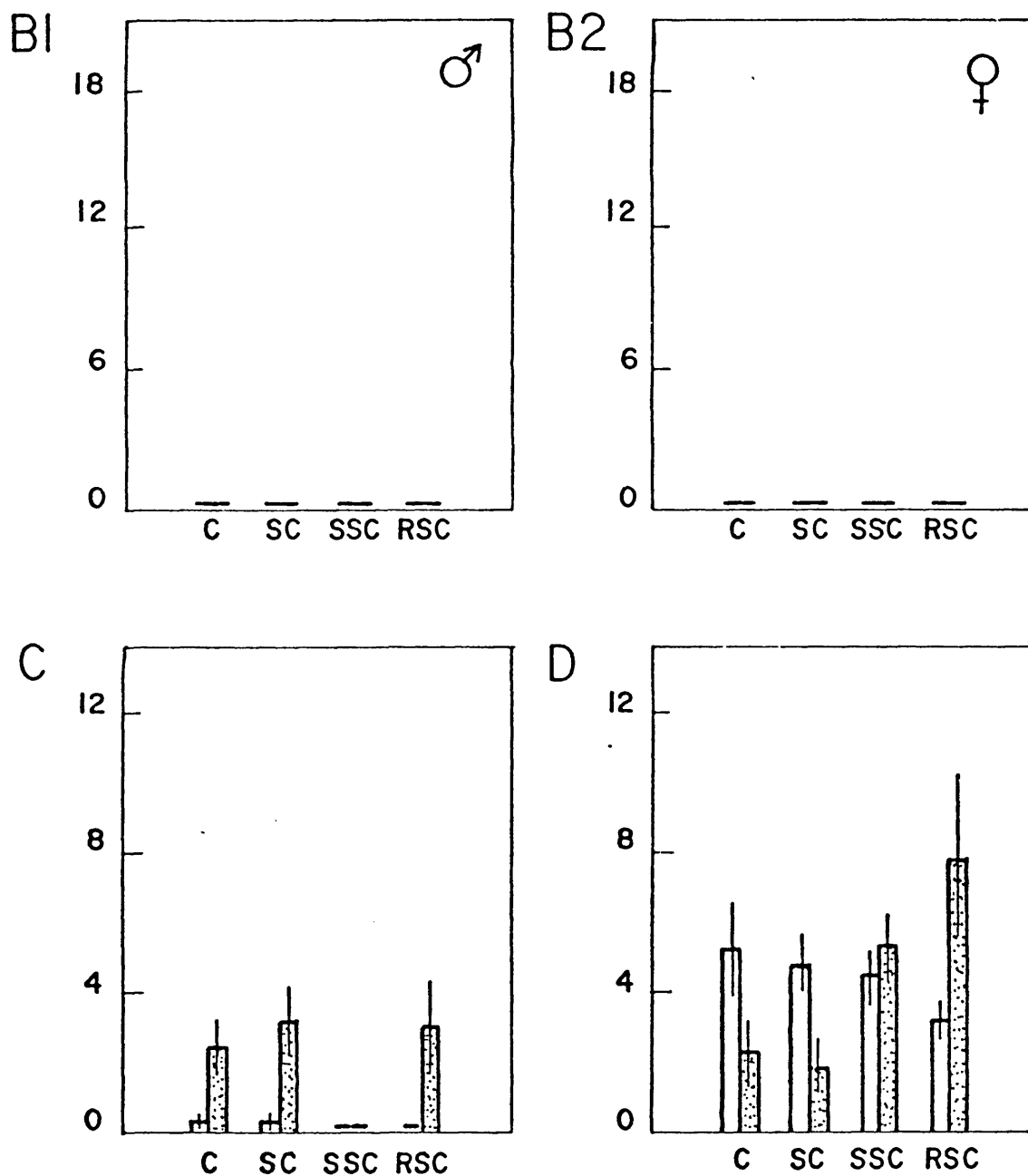


Figura 18.- Comportamiento sexual de los distintos grupos experimentales a los 40 días de edad.

Se representan las variables de número de montas realizadas por los machos (B1), lordosis (B2) y actitudes agresivas (C) y pseudoagresivas (D). El resto de las condiciones y símbolos como en la figura 17.

TABLA XIII

Comportamiento sexual de los grupos experimentales a los 40 días de edad

Grupo	Tipo A1	Tipo A2	Tipo A3	Tipo A4	Tipo B1	Tipo B2
C	35 + 4	8 + 2	2 + 1		0 + 0	
SC	33 + 3	4 + 1	0 + 0		0 + 0	
SSC	31 + 2	9 + 3	1 + 0		0 + 0	
RSC	27 + 2	7 + 1	2 + 1		0 + 0	
<hr/>						
C	15 + 1	2 + 1		0 + 0		0 + 0
SC	17 + 1	1 + 0		0 + 0		0 + 0
SSC	14 + 2	3 + 1		0 + 0		0 + 0
RSC	17 + 2	2 + 1		1 + 1		0 + 0

Las cifras corresponden al número medio (mas menos el error estándar) de actitudes sexuales tipo A1 (olfateos, lamidas), tipo A2 (persecuciones), tipo A3 (intentos de monta), tipo A4 (saltos de flecha), tipo B1 (montas) y tipo B2 (lordosis), observadas en las pruebas que se describen en el apartado II.4.7. Los asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo control. Otros símbolos como en la Tabla I.

\* p < 0,05

\*\* p < 0,01

\*\*\* p < 0,001

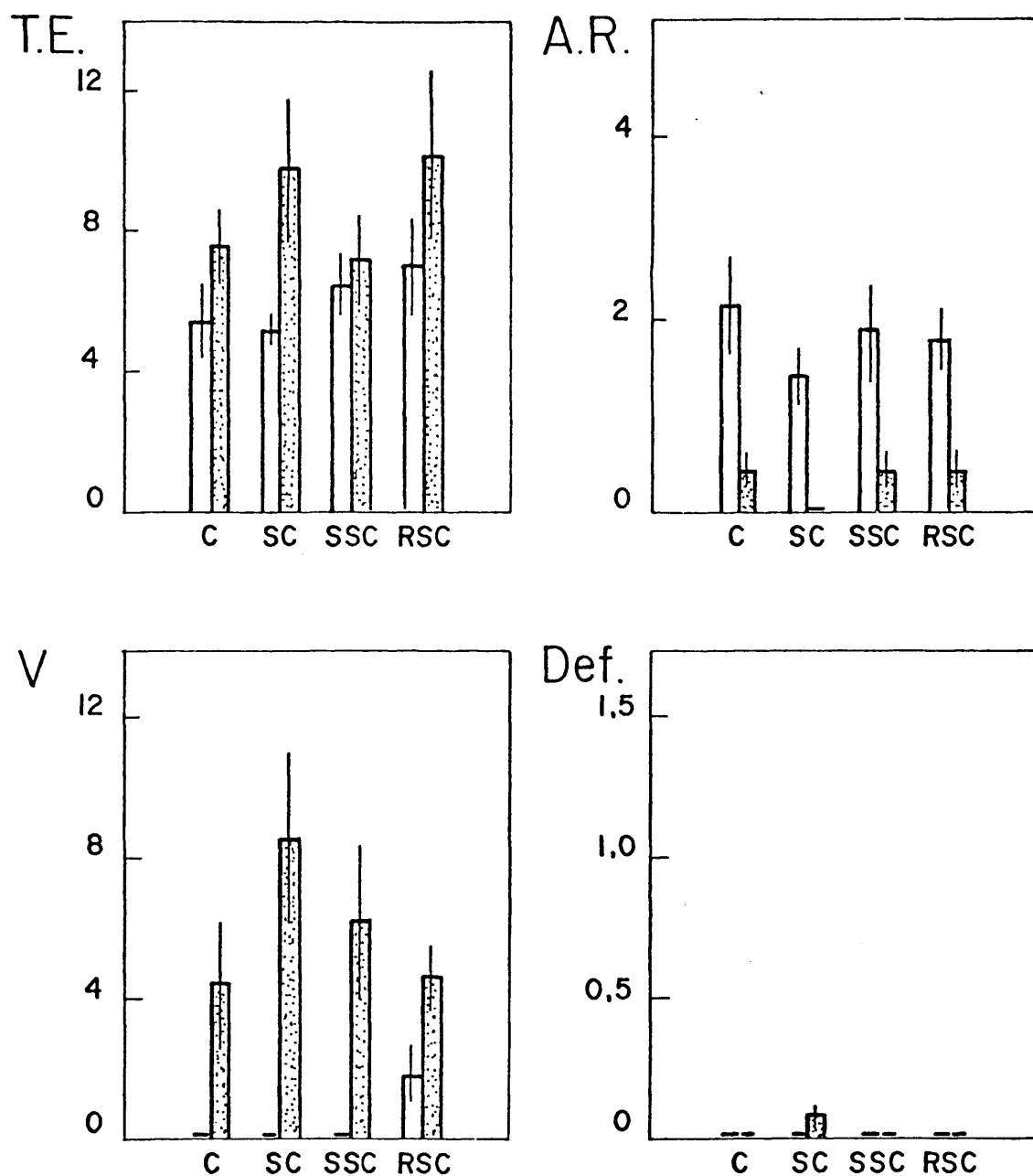


Figura 19.- Tiempo de emergencia (T.E.), atusamiento rostra (A.R.), vocalizaciones (V) y número de defecaciones (Def.) contabilizadas durante la pruebas de sexualidad a los 40 días de edad.

Condiciones y símbolos como en la figura 17.

TABLA XIV

Otras actitudes observadas durante las pruebas de sexualidad a los 40 días de edad

Grupo	Tipo C	Tipo D	T.E.	A.R.	V.	Def.
♂	C	0 + 0	5 + 1	2 + 1	0 + 0	0 + 0
	SC	0 + 0	5 + 1	1 + 0	0 + 0	0 + 0
	SSC	0 + 0	4 + 1	2 + 1	0 + 0	0 + 0
	RSC	0 + 0	3 + 1	2 + 0	2 + 1	0 + 0
♀	C	2 + 1	4 + 1	8 + 1	4 + 2	0 + 0
	SC	3 + 1	4 + 1	10 + 2	9 + 2	1 + 1
	SSC	3 + 1	5 + 1	7 + 1	6 + 2	0 + 0
	RSC	3 + 1	8 + 2	10 + 2	5 + 1	0 + 0

Las cifras corresponden al número medio (mas menos el error estándar) de comportamientos tipo C (posturas agresivas) y tipo D (actitudes pseudoagresivas). También se contabilizó el tiempo de emergencia (T.E.), los atusamientos rostrales (A.R.), las vocalizaciones (V) y las defecaciones (Def.), observadas en las pruebas que se describen en el apartado II.4.7. Los asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo control. Otros símbolos como en la Tabla I.

\* p < 0,05

\*\* p < 0,01

\*\*\* p < 0,001

senta una situación intermedia.

Por lo que respecta a las hembras, el último tipo de conducta incluida en el tipo A, es la denominada A4 (saltos de flecha), para la cual sí hemos encontrado diferencias entre grupos, y muy expresivas además, pues el grupo RSC difiere del C ( $p < 0,001$ ) y del SC ( $p < 0,001$ ) y el grupo SSC también difiere del control ( $p < 0,01$ ) y del SC ( $p < 0,001$ ). Las diferencias encontradas son en el sentido de valores más bajos para RSC y SSC. Es decir, que entre los grupos RSC y SSC no existen diferencias significativas y ambos difieren de los grupos SC y C, entre los cuales, a su vez, tampoco existen diferencias significativas (figura 20).

En cuanto a las actitudes sexuales copulatorias (tipo B) hemos encontrado que para los machos no hay diferencias estadísticamente significativas respecto al número de montas (B1) a esta edad, aunque se aprecia una fuerte tendencia, en el sentido de que los grupos RSC y SSC presentan un número mucho menor de montas que los SC y C, que apenas difieren entre sí.

Por otra parte, hemos encontrado diferencias entre los grupos de hembras respecto al número de lordosis producidas durante la prueba (B2). Así el grupo RSC se diferencia del C ( $p < 0,001$ ) y del SC ( $p < 0,001$ ) y el grupo SSC también difiere del C ( $p < 0,001$ ) y del SC ( $p < 0,01$ ). Encontrándose valores mucho más bajos para los grupos RSC y SSC que para los SC y C, que presentan valores muy semejantes entre sí.

Es decir, el número de lordosis realizadas por los grupos de hembras más severamente tratadas durante la infancia (RSC y SSC), es mucho menor que el que presentan los controles y el grupo sometido al tratamiento más atenuado (SC).

En las actitudes agresivas (tipo C) no hemos encontrado diferencias entre los grupos de machos, ni entre las hembras. Pero así como dentro de los grupos de machos los valores medios obtenidos son cero o muy próximos a cero, dentro de los grupos de hembras

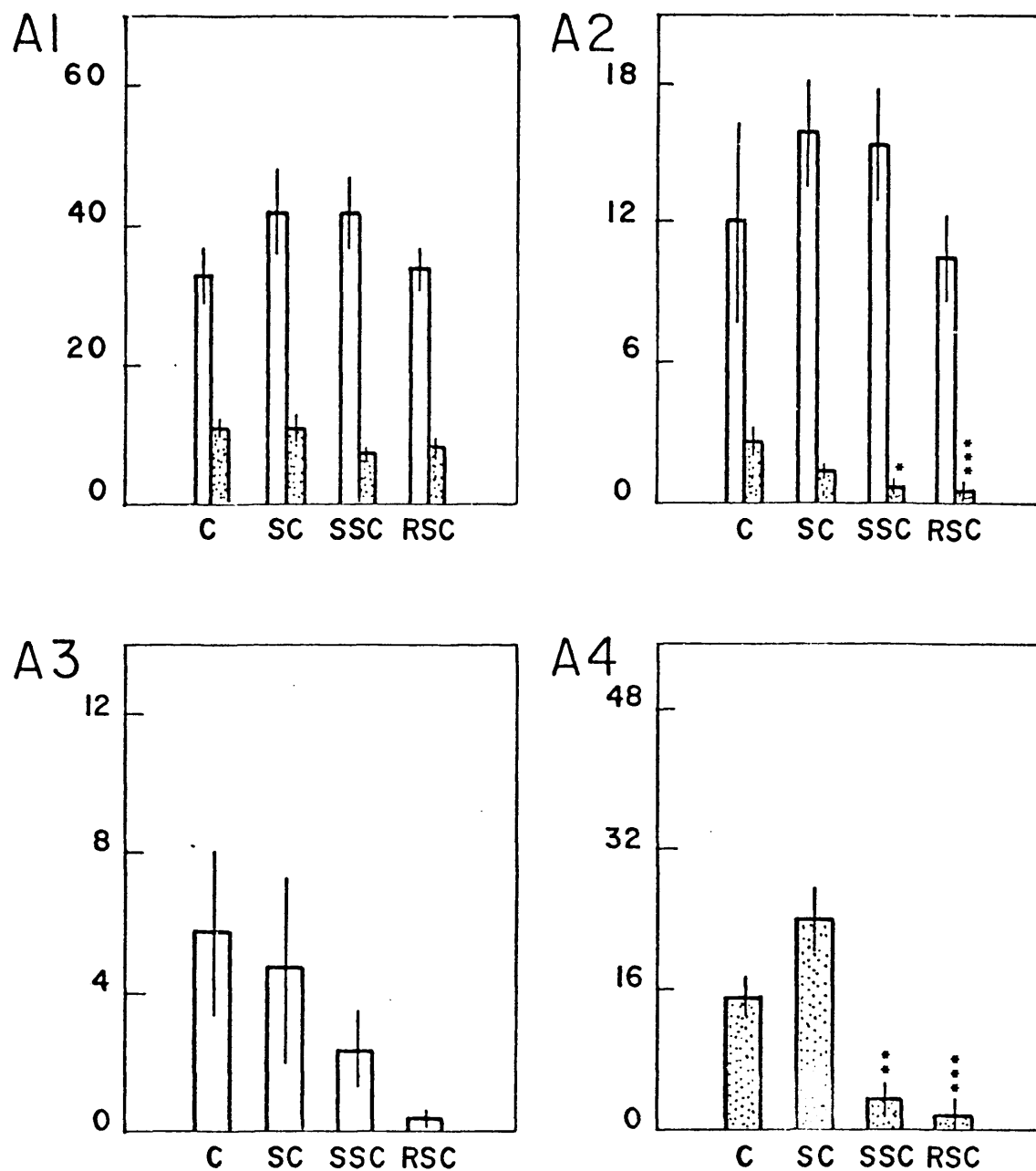


Figura 20.- Comportamiento sexual de los distintos grupos experimentales a los 80 días de edad.

Condiciones y símbolos como en la figura 17.

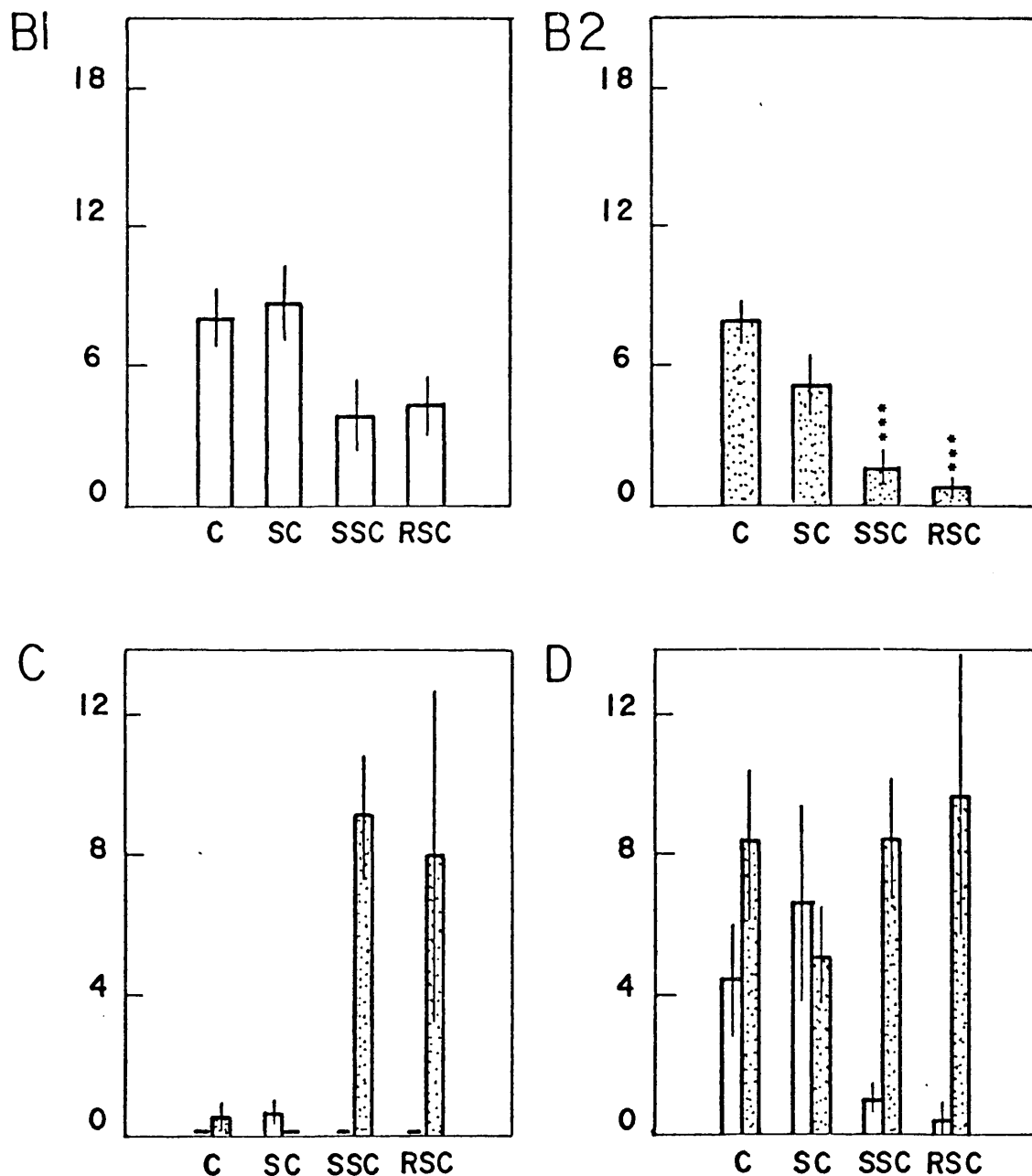


Figura 21.- Comportamiento sexual de los distintos grupos experimentales a los 80 días de edad.

Las variables representadas son el número de montas realizadas por los machos (B1), lordosis (B2) y actitudes agresivas (C) y pseudoagresivas (D). El resto de las condiciones y símbolos como en la figura 17.

TABLA XV

Comportamiento sexual de los grupos experimentales a los 80 días de edad

Grupo	Tipo A1	Tipo A2	Tipo A3	Tipo A4	Tipo B1	Tipo B2
C	33 ± 4	12 ± 4	6 ± 2		8 ± 1	
SC	42 ± 6	16 ± 2	5 ± 3		9 ± 2	
SSC	42 ± 5	15 ± 2	2 ± 1		4 ± 2	
RSC	34 ± 3	10 ± 2	0 ± 0		4 ± 1	
C	11 ± 1	2 ± 1		15 ± 2		8 ± 1
SC	11 ± 2	1 ± 0		24 ± 4		5 ± 1
♀ SSC	7 ± 1	*1 ± 0		**4 ± 1		***1 ± 1
RSC	8 ± 1	***0 ± 0		***2 ± 1		***1 ± 0

Condiciones y símbolos como en la Tabla XIII.

\* p < 0,05

\*\* p < 0,01

\*\*\* p < 0,001



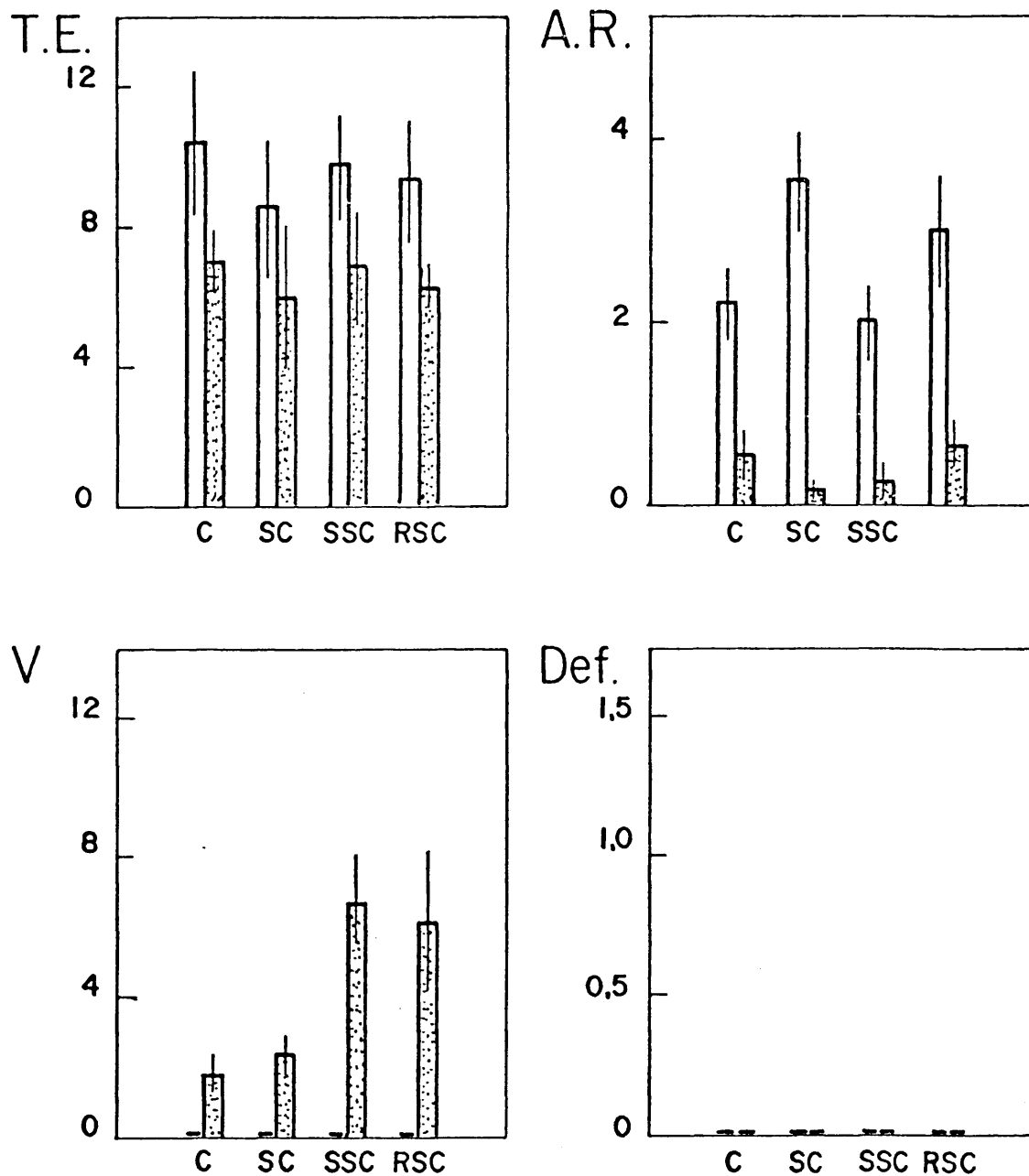


Figura 22.- Tiempo de emergencia (T.E.), atusamiento rostral (A.R.), vocalizaciones (V) y número de defecaciones (Def.) contabilizadas durante las pruebas de sexualidad a los 80 días de edad.

Condiciones y símbolos como en la figura 17.

TABLA XVI

Otras actitudes observadas durante las pruebas de sexualidad a los 80 días de edad

Grupo	Tipo C	Tipo D	T.É.	A.R.	V.	Def.
♂	C	0 + 0	4 + 2	10 + 2	2 + 0	0 + 0
	SC	1 + 0	7 + 3	9 + 2	4 + 1	0 + 0
	SSC	0 + 0	1 + 0	10 + 1	2 + 0	0 + 0
	RSC	0 + 0	0 + 0	9 + 2	3 + 1	0 + 0
♀	C	1 + 0	8 + 2	7 + 1	1 + 0	0 + 0
	SC	0 + 0	5 + 2	6 + 2	0 + 0	0 + 0
	SSC	9 + 2	8 + 2	7 + 2	0 + 0	0 + 0
	RSC	8 + 5	10 + 4	6 + 1	1 + 0	0 + 0

Condiciones y símbolos como en la Tabla XIV.

\*p < 0,05

\*\* p < 0,01

\*\*\* p < 0,001

se observa una tendencia que no llega a ser significativa pero que merece la pena comentar, en el sentido de valores medios mucho más altos en actividades agresivas para los grupos RSC y SSC (figura 21). Esto se explica como un rechazo al individuo que tienen enfrente, en este caso un macho sexualmente maduro, rechazo que no se produce en los grupos SC y C.

En cuanto a las actitudes de juego ("play behaviour") o pseudoagresivas (tipo D), no hemos encontrado diferencias en las hembras y tampoco entre los machos de los grupos experimentales respecto al control, aunque nuevamente hemos de fijarnos en la tendencia que presentan los valores medios de cada grupo, siendo los cuatro grupos muy parecidos dos a dos, el RSC y el SSC por una parte y el SC y el C por otra (figura 21).

Por último, no hemos encontrado diferencias ni entre los grupos de machos ni entre las hembras de los diferentes grupos experimentales en el tiempo de emergencia (T.E.), atusamiento rostral (A.R.) y defecaciones (Def.). Por lo que respecta a la vocalización (V), tampoco hemos encontrado diferencias, pero en el caso de las hembras, aunque no llegue a ser significativa, se puede observar que la media obtenida por RSC es nuevamente semejante a SSC y ambos se alejan de SC y C, que presentan valores más bajos y que a su vez también son muy parecidos. Esto se explica porque, como ya hemos dicho anteriormente, el número de actitudes agresivas y de rechazos del macho, han sido mayores también en esos dos grupos.

### III. 6.3.- Resultados obtenidos a los 120 días de edad.

En los grupos de machos no hemos encontrado diferencias en las actividades del tipo A1 (olfateos + lamidas), ni en persecuciones (A2), por otra parte entre los grupos de hembras en las actividades denominadas A1 aparecen diferencias entre SSC y C ( $p < 0,05$ )

pero ningún grupo difiere del control en A2.

Por lo que respecta a los intentos de monta (A3) en los machos, no hay diferencias entre los cuatro grupos pero se pone de manifiesto una tendencia siendo los valores medios obtenidos en los grupos RSC, SSC y SC superiores a los del control (figura 23). En el caso de las hembras, el número de saltos de flecha (A4) realizados por el grupo RSC difiere del presentado por SC ( $p < 0,001$ ) y del control ( $p < 0,001$ ) y , por otra parte, SSC también difiere del grupo SC ( $p < 0,01$ ) y del C ( $p < 0,001$ ). Es el grupo RSC el que tiene los valores más bajos, seguido del SSC, entre los cuales no hay diferencias, después el grupo SC y finalmente el C con los valores más altos, tampoco hay diferencias entre estos dos últimos. Hecho que se viene repitiendo en varios parámetros analizados desde los 80 días.

En cuanto a las actitudes copulatorias (tipo B1) encontramos en los machos diferencias significativas entre todos los grupos experimentales y el control; así tenemos diferencias para RSC ( $p < 0,001$ ), SSC ( $p < 0,01$ ) y SC ( $p < 0,05$ ), siempre a favor de un número de montas mucho más elevado en el grupo control (figura 24).

En las hembras el número de lordosis (tipo B2) ha sido significativamente más alto en las hembras controles, apareciendo diferencias respecto a todos los grupos experimentales RSC ( $p < 0,001$ ), SSC ( $p < 0,001$ ) y SC ( $p < 0,001$ ). También aparecen diferencias entre RSC y SC ( $p < 0,001$ ) y entre SSC y SC ( $p < 0,01$ ).

En las actividades agresivas (tipo C) no hemos encontrado diferencias entre los machos. De todos modos no era esperable que los machos en esta prueba desplegaran un gran comportamiento agresivo. Por una parte, los machos controles se han dedicado a actividades copulatorias, y los machos de los grupos experimentales RSC, SSC y SC no tanto a actividades copulatorias como a otras sociales o exploratorias, de manera que la agresión ha resultado mínima, y en este caso ciertamente nula. Además los grupos trata-

dos neonatalmente , como ya se ha indicado en el apartado correspondiente ( III. 4) , presentan niveles de agresión disminuidos en la prueba de lucha intraespecífica (enfrendándose a un igual), lo cual debe hacerse aún más patente en la prueba de sexualidad donde por envergadura física dominan la situación.

En las hembras, tampoco encontramos diferencias, pero se observa que en los grupos RSC y SSC los niveles de agresión están aumentados. Esta es la consecuencia de tener un número de lordosis (B2) muy deprimido. De manera que podemos decir que no caben más que dos alternativas opuestas frente a un macho sexualmente motivado, o aceptarle realizando lordosis, como en el caso de las hembras control, o rechazarle con actitudes agresivas como ocurre sobre todo en los grupos RSC y SSC.

En cuanto a las actividades de juego (tipo D), no encontramos diferencias, pero tanto en los machos como en las hembras se ven aumentadas en los grupos tratados neonatalmente RSC, SSC y SC. Quizás como consecuencia de una mayor exploración de la pareja, curiosidad, juego o incremento de la relación social.

Por lo que se refiere, finalmente, a los cuatro últimos parámetros estudiados diremos que en atusamiento rostral (A.R.), vocalizaciones (V) y defecación (Def.) no hemos encontrado diferencias ni entre machos ni entre hembras de los diferentes grupos tratados. Por lo que respecta al tiempo de emergencia (T.E.) tampoco hemos encontrado diferencias, pero puede observarse nuevamente la misma tendencia que venimos repitiendo y que en este caso se traduce en que los grupos experimentales RSC, SSC y también SC, en el caso de los machos, presentan unos tiempos de emergencia superiores a los de los controles (machos y hembras).

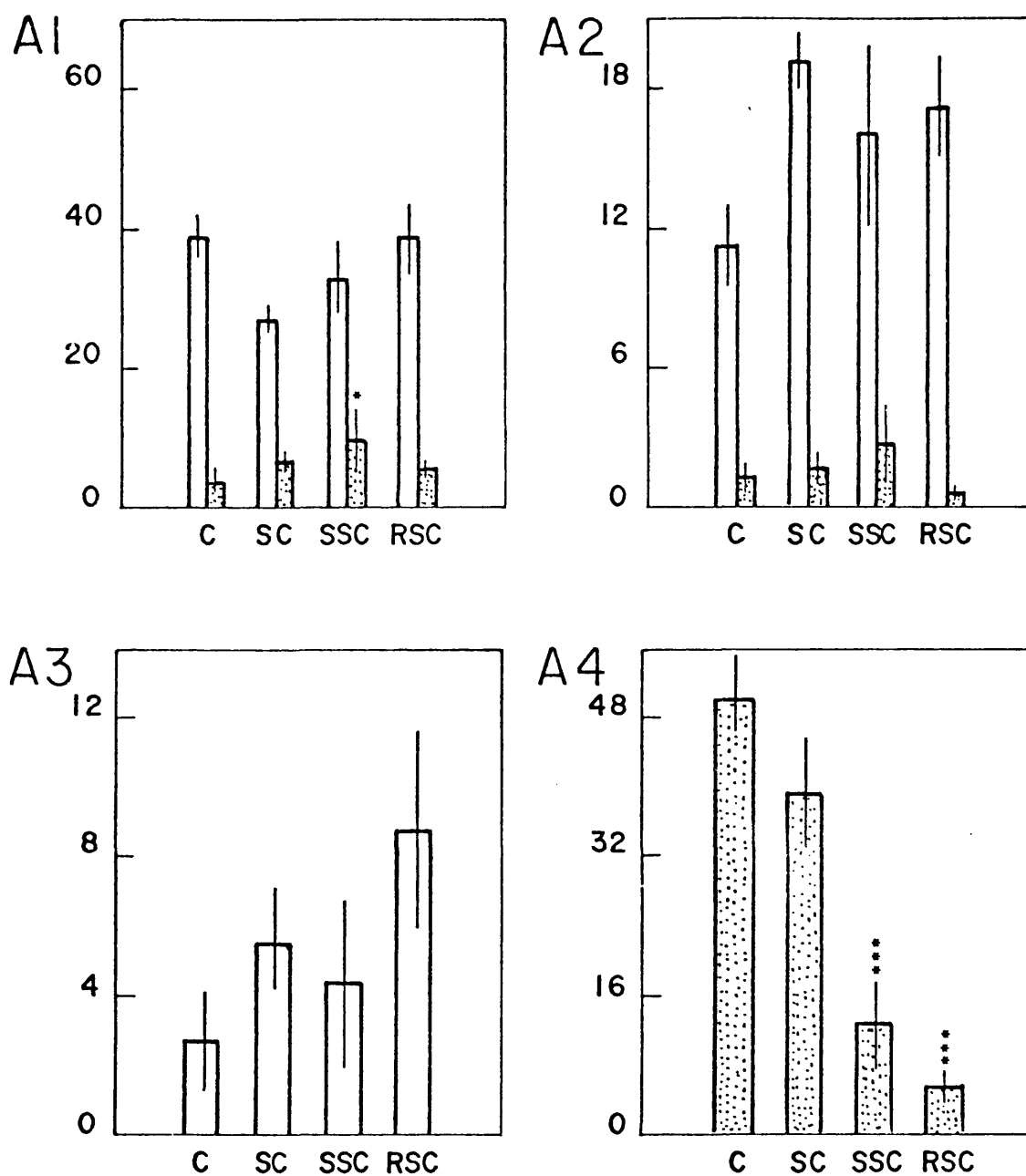


Figura 23.- Comportamiento sexual de los distintos grupos experimentales a los 120 días de edad.

Condiciones y símbolos como en la figura 17.

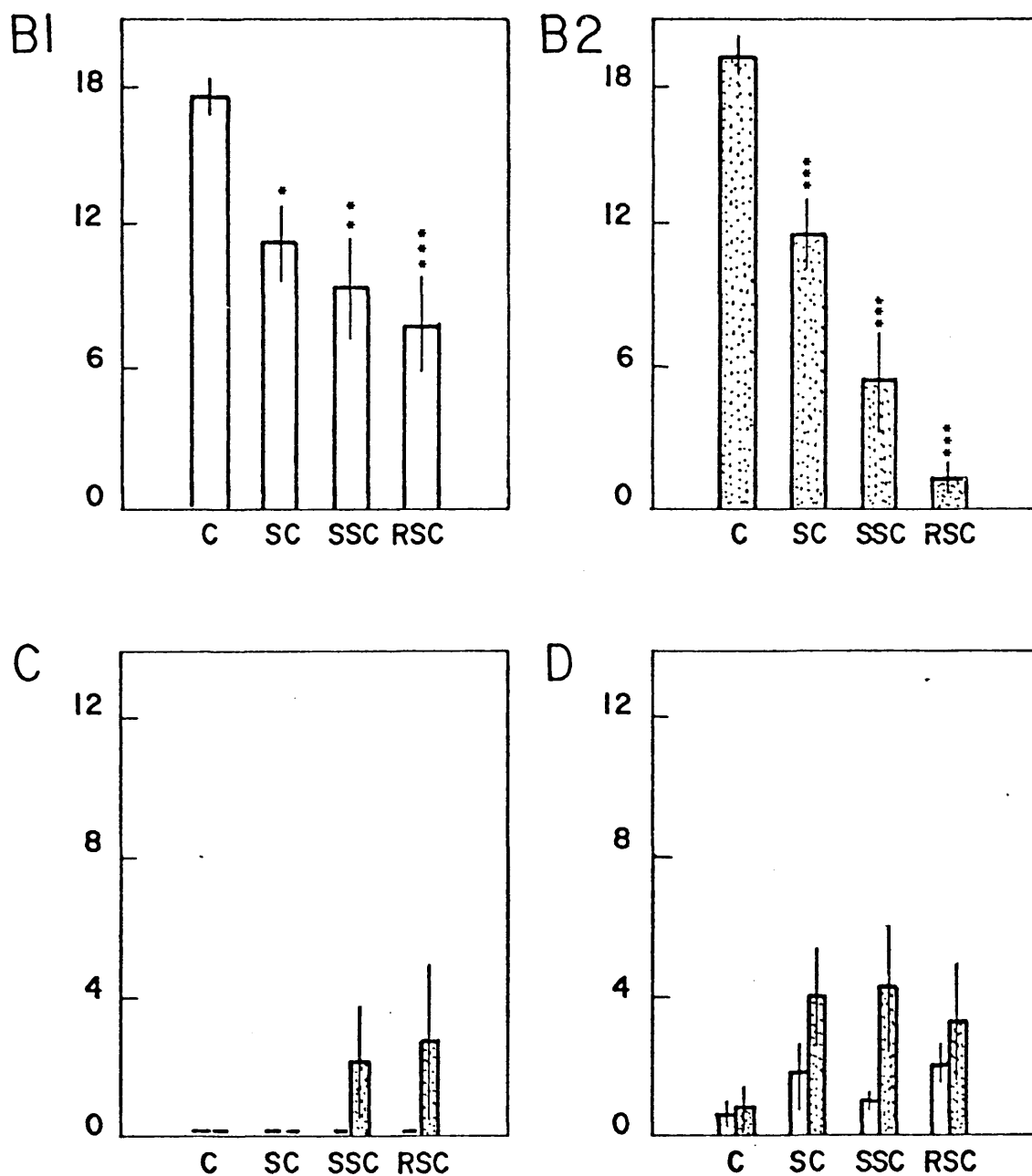


Figura 24.- Comportamiento sexual de los distintos grupos experimentales a los 120 días de edad.

Las variables representadas son el número de montas realizadas por los machos ( $B_1$ ), lordosis ( $B_2$ ) y actitudes agresivas (C) y pseudoagresivas (D). El resto de las condiciones y símbolos como en la figura 17.

TABLA XVII

Comportamiento sexual de los grupos experimentales a los 120 días de edad

Grupo	Tipo A1	Tipo A2	Tipo A3	Tipo A4	Tipo B1	Tipo B2
C	39 ± 3	11 ± 2	3 ± 1		18 ± 1	
SC	27 ± 2	19 ± 1	6 ± 1		*12 ± 2	
SSC	33 ± 5	16 ± 4	4 ± 2		**10 ± 2	
RSC	39 ± 5	17 ± 2	9 ± 3		***8 ± 2	
C	4 ± 1	1 ± 1		50 ± 4		19 ± 1
SC	7 ± 1	2 ± 1		39 ± 7		***12 ± 2
Q SSC	*10 ± 1	3 ± 1		***13 ± 5		***5 ± 2
RSC	6 ± 1	1 ± 0		***6 ± 2		***1 ± 1

Condiciones y símbolos como en la Tabla XIII.

\* p < 0,05

\*\* p < 0,01

\*\*\* p < 0,001



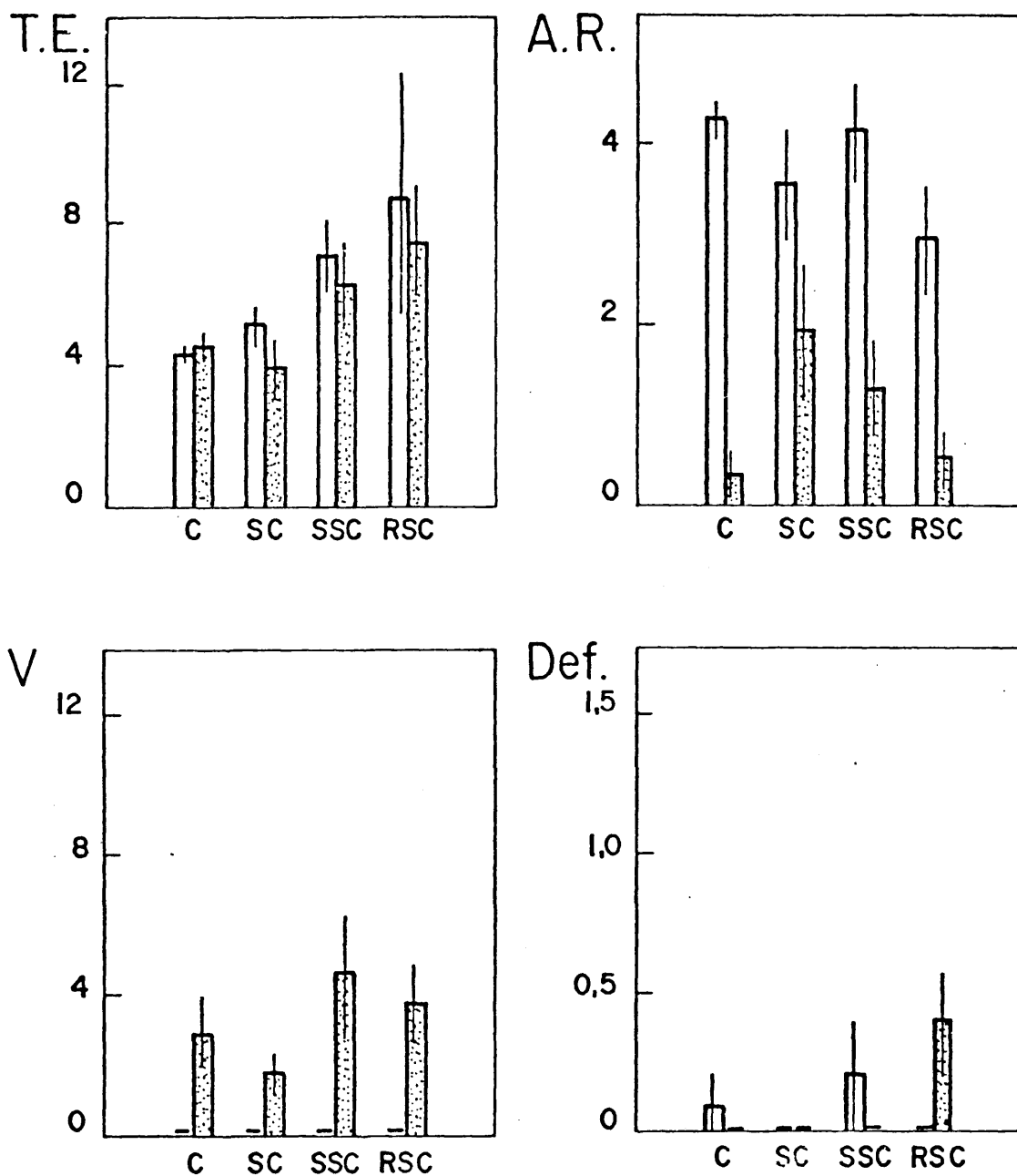


Figura 25.- Tiempo de emergencia (T.E.), atusamiento rostral (A.R.), vocalizaciones (V) y número de defecaciones (Def.) contabilizadas durante las pruebas de sexualidad a los 120 días de edad.

Condiciones y símbolos como en la figura 17.

TABLA XVIII

Otras actitudes observadas durante las pruebas de sexualidad a los 120 días de edad

Grupo	Tipo C	Tipo D	T.E.	A.R.	V.	Def.
C	0 + 0	1 + 0	4 + 0	5 + 1	0 + 0	0 + 0
SC	0 + 0	2 + 1	5 + 1	4 + 1	0 + 0	0 + 0
SSC	0 + 0	1 + 0	7 + 1	4 + 1	0 + 0	0 + 0
RSC	0 + 0	2 + 1	9 + 3	3 + 1	0 + 0	0 + 0
C	0 + 0	1 + 1	5 + 0	0 + 0	3 + 1	0 + 0
SC	0 + 0	4 + 1	4 + 1	2 + 1	2 + 1	0 + 0
SSC	2 + 2	4 + 2	6 + 1	1 + 1	5 + 2	0 + 0
RSC	3 + 2	3 + 2	8 + 2	1 + 0	4 + 1	0 + 0

Condiciones y símbolos como en la Tabla XIV.

\*p < 0,05  
 \*\*p < 0,01  
 \*\*\*p < 0,001

El hecho de que a los 40 días no aparezcan diferencias en los parámetros estudiados, y sobre todo en las posturas tipo B (copulatorias) y tipo C (agresivas) se explica por el hecho de ser pautas que requieren maduración sexual para su expresión, que aparecen después de la edad peripuberal.

Este hecho coincide con los resultados obtenidos por otros autores (76, 133).

Por el contrario, hay muchos puntos de coincidencia en los resultados obtenidos a los 80 y 120 días de edad. Tanto en machos como en hembras no aparecen diferencias significativas a ninguna de las dos edades en A1 (olfateos + lamidas), A2 (persecuciones), A3 (intentos de monta por parte del macho), C (actitudes agresivas), D ( actitudes de juego), ni tampoco en el tiempo de emergencia (T.E.), atusamiento rostral (A.R.), vocalización (V) y defecación (Def.), ( con la excepción de dos grupos de hembras que presentan ligeras diferencias respecto al control en A2 a los 80 días, pero que al no mantenerse a los 120 días no deben considerarse como relevantes.

También hay parámetros en los que a los 80 días ya encontramos diferencias, que se mantienen y consolidan a los 120 días, como es el caso de las actitudes A4 (saltos de flecha de las hembras), donde a los 80 días los grupos RSC y SSC presentan un número de saltos de flecha muy inferior al de SC y C ( que no se diferencian entre sí) y estos resultados se mantienen a los 120 días.

En B2 (lordosis de las hembras) a los 80 días tanto RSC como SSC difieren de SC y C, presentando un menor número de lordosis, mientras que a los 120 días estas diferencias se amplían, pues ahora son los tres grupos experimentales RSC, SSC y SC los que se diferencian del control.

Por último podemos decir que a los 120 días aparecen nuevas diferencias, como ocurre en las actitudes B1 (montas del macho) que no son significativas a los 80 días, aunque ya aparece una tendencia muy expresiva, y en cambio a los 120 días todos los grupos experimentales difieren significativamente del control, presentando un número de montas mucho menor.

Los tratamientos neonatales se han mostrado en nuestro trabajo como un factor perjudicial para la manifestación de la conducta sexual, sobre todo para las actitudes específicamente copulatorias (tipo B), y tanto en los machos como en las hembras, quizás porque dichas actividades requieren una mayor precisión en los mecanismos fisiológicos desencadenantes, lo cual parece ser que las hace más vulnerables a los tratamientos en la etapa postnatal temprana (65,66,87,178,282,283).

La acción del tratamiento ha debido ser especialmente eficaz al haber actuado en la fase crítica que para la diferenciación sexual de la conducta en la rata significan los primeros días de vida (80,81,82,83,84,118). En efecto, hay un gran número de trabajos que ponen de manifiesto que las diferencias sexuales en la conducta copulatoria de la rata atraviesan por un período de organización neonatal y, posteriormente, por un período postpuberal de activación, según han sugerido Phoenix y col. (citados en la ref. 82). Además, los efectos sobre el comportamiento sexual debidos a una alteración endocrina, como la gonadectomía, en el período de organización son irreversibles, mientras que los del período de activación pueden ser corregidos con una terapia adecuada de andrógenos, mientras que el tratamiento androgénico neonatal de las hembras, cuando se realiza en el primer día de vida postnatal se traduce en una pérdida radical de los patrones de conducta sexual femenina, anulándose completamente la reacción lordótica (82,133,267,282).

Parece que también en este caso los tres tipos de tratamientos han tenido efectos sobre la conducta sexual de los individuos, tanto machos como hembras, pero la acción superpuesta de la ausencia de la madre más un medio adverso (RSC) y la separación física de la madre realizada diariamente durante un período de tiempo largo (SSC) han tenido consecuencias a nivel de conducta sexual muy semejantes, mientras que la separación de la madre durante un tiempo más corto (SC) no ha tenido efectos tan espectaculares, sino que ha ocupado posiciones intermedias entre los tratamientos RSC y SSC y el grupo control, hecho éste que confirma los resultados obtenidos por nosotros mismos en este laboratorio (112).

Nuestros resultados son comparables con los obtenidos por otros autores que encontraron una reducción de la conducta copulatoria en machos cuyas madres habían sido sometidas a estrés durante la gestación (87,178). Por otra parte, en otros trabajos donde se ha aplicado también estrés prenatal han aparecido efectos mucho más radicales, como por ejemplo una feminización de los machos, que se expresaba en la realización de lordosis (65) o en alteraciones anatómicas de las estructuras genitales (66).

Por lo que se refiere a las actitudes agresivas, no hemos encontrado diferencias significativas entre los grupos experimentales y el control debidas al tratamiento. El hecho de que no hayan aparecido entre los grupos de machos se explica porque el posible acoso de las hembras no provocaba en ellos nunca reacciones agresivas, como tampoco las manifestaron en la prueba de lucha intraespecífica, pero ahora mucho menos cuando el oponente era una hembra receptiva. Por otra parte, en las hembras se observa una tendencia, en el sentido de una mayor actitud agresiva en las hembras RSC y SSC, que se explica porque son las hembras de estos dos grupos las que han presentado un menor número de lordosis, de manera que ante el acoso de un macho su respuesta era un rechazo agresivo.

El hecho de que también se haya obtenido un aumento, aunque no significativo estadísticamente, en el número de vocalizaciones de las hembras, apoya esta interpretación.

Por último, no se han encontrado diferencias en atusamiento rostral, pero sí una tendencia muy clara en el T.E. , que se hace mayor en los animales pertenecientes a los grupos experimentales (de machos) lo cual se interpreta también por la posible menor motivación sexual frente a una hembra en estro, respecto a los machos control. Hecho éste que está de acuerdo con los resultados obtenidos por otros autores (134) y por nosotros mismos en trabajos previos (112).

También cabe señalar que no se han visto afectadas por igual todas las actitudes sexuales consideradas en este estudio, incluso hay algunas que no se han visto afectadas en absoluto, lo cual nos hace pensar también en la existencia de diferentes componentes en el comportamiento sexual, coincidiendo con lo ya apuntado por Diamond (citado en la ref. 133) y Hernández (133). Dichos componentes deben estar regulados y/o coordinados por diferentes mecanismos internos, que en el caso de que resultaran alterados por la aplicación de estrés en la época neonatal (coincidiendo con el período crítico) podrían verse afectados de distinto modo cuantitativa y cualitativamente.

Finalmente, cabe señalar que los resultados obtenidos en esta prueba, en el sentido de ser sobre todo los grupo RSC y SSC (correspondientes a los tratamientos más intensos) los que presentan una mayor modificación de los patrones comportamentales con respecto a los controles, vienen a apoyar los ya expuestos en las pruebas de campo abierto y de agresión intraespecífica, lo cual parece indicar que la influencia del tratamiento aplicado en la época neonatal sobre la organización comportamental de la rata abarca un repertorio de conducta más amplio que el específicamente sexual (170).

### III. 7.- PRUEBA DE APRENDIZAJE DISCRIMINATIVO EN LABERINTO CON REFUERZO ALIMENTICIO.

Los resultados obtenidos en esta prueba se han representado en las figuras 26-31 y en las Tablas XIX-XXVI.

#### III. 7.1.- Período de adquisición.

En cuanto al número de respuestas acierto no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas debidas al sexo, excepto entre los grupos control, pues entre ambos tanto el coeficiente  $a_1$  (no distinguible de cero en los machos) como el  $a_2$  (no distinguible de cero en las hembras) no resultan comparables.

Por lo que se refiere al tratamiento, tanto el grupo de machos RSC como los SSC y SC difieren del control con la misma significación estadística en todos los casos ( $p < 0,001$ ) para el coeficiente  $a_2$ . Los resultados del coeficiente  $a_1$  no resultan comparables pues el grupo control presenta un valor, para este coeficiente, no distinguible estadísticamente de cero, siendo en los grupos experimentales diferente de cero.

Por lo que se refiere a las hembras, también hemos encontrado diferencias de los grupos tratados frente al control, pues aunque no aparecen diferencias respecto al coeficiente  $a_1$ , el  $a_2$  no resulta comparable, pues para las hembras control no es distinguible estadísticamente de cero, mientras que sí lo es para los grupos experimentales RSC, SSC y SC.

Podemos decir en resumen que hay diferencias sexuales entre los grupos control y que no existen entre los grupos sometidos a tratamiento neonatal.

Los grupos experimentales de machos difieren de los machos control, así como los de hembras lo hacen también de los respecti-

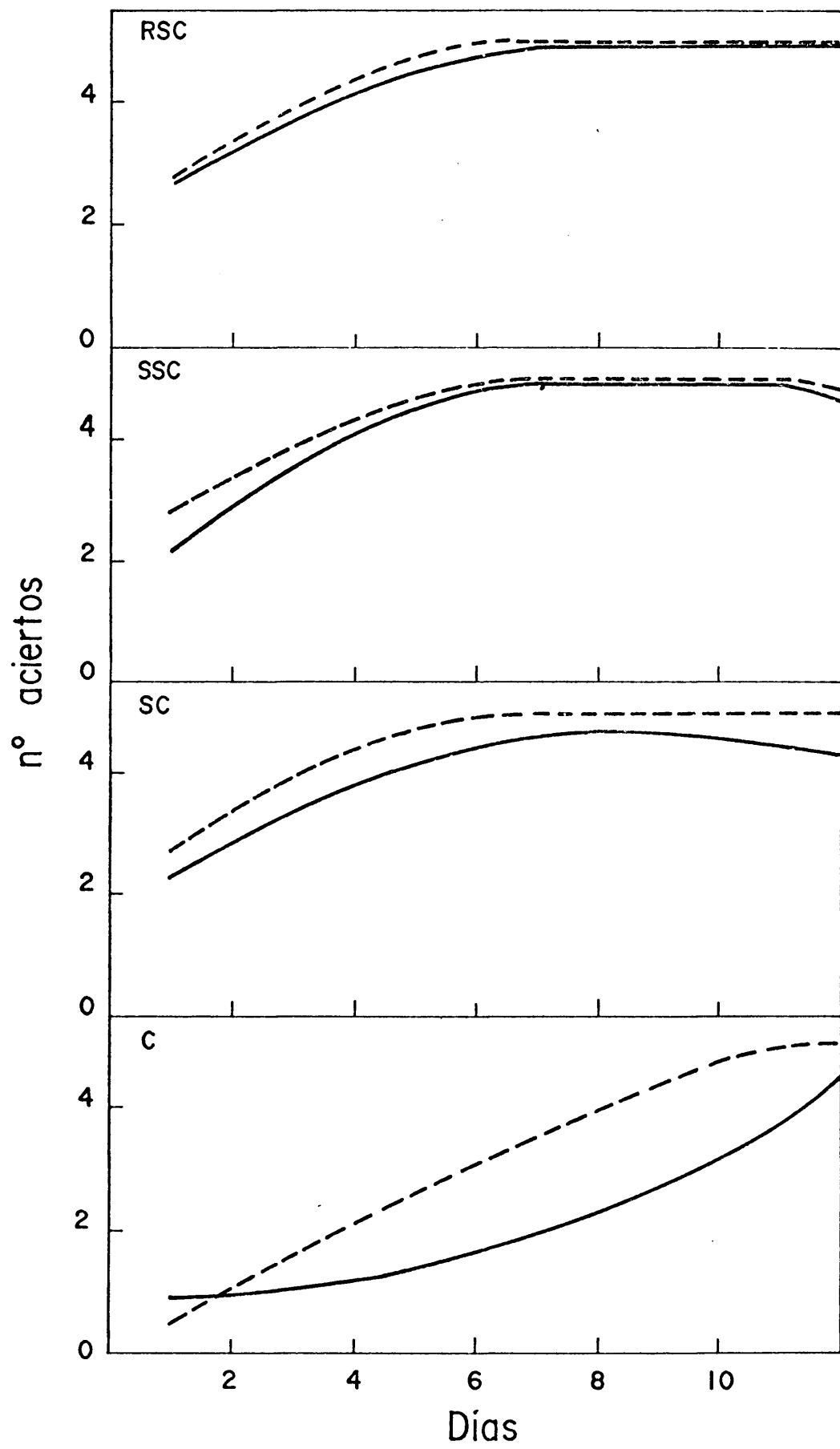




Figura 26.- Fase de aprendizaje en el laberinto.

El entrenamiento de los animales experimentales tuvo lugar de los 80 a los 91 días de edad según se describe en el apartado II. 4.8. En la figura se representan las curvas de regresión del número de aciertos sobre los días de aprendizaje, tanto para los machos (línea continua) como para las hembras (línea discontinua). El número medio de aciertos, el error estándar, las ecuaciones de las curvas y la significación estadística se muestran en la tabla XIX. Símbolos como en la Tabla I.

TABLA XIX

Número de aciertos de los distintos grupos experimentales durante la fase de aprendizaje en el laberinto

Grupo	Días											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
♂	C	1 + 0	1 + 1	1 + 0	1 + 0	2 + 1	2 + 1	3 + 1	3 + 1	4 + 1	4 + 0	5 + 0
						$y = 0,99 - 0,08x + 0,03x^2$						
	SC	2 + 1	3 + 1	4 + 1	4 + 1	4 + 1	5 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0
						$y = 1,63 + 0,70x - 0,04x^2$						
♀	SSC	2 + 0	3 + 0	4 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0
						$y = 1,40 + 0,87x - 0,05x^2$						
	RSC	2 + 0	4 + 0	4 + 0	4 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0
						$y = 1,90 + 0,71x - 0,04x^2$						
♀	C	0 + 0	2 + 1	2 + 1	2 + 1	3 + 1	4 + 1	4 + 1	4 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0
						$y = -0,07 + 0,59x - 0,01x^2$						
	SC	3 + 0	4 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0
						$y = 2,04 + 0,74x - 0,04x^2$						
♀	SSC	2 + 1	4 + 0	4 + 0	4 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0
						$y = 2,08 + 0,71x - 0,04x^2$						
	RSC	2 + 1	4 + 0	4 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0	5 + 0
						$y = 2,03 + 0,73x - 0,04x^2$						

Las cifras corresponden al número medio (mas menos el error estándar) de aciertos observados en cada grupo en la prueba del laberinto (sección II.4.8.). También se da la ecuación de la curva de regresión que mejor se ajusta a los datos experimentales. Otros símbolos como en la Tabla I. Los símbolos sobre los parámetros de las curvas indican diferencias estadísticamente significativas respecto a los grupos control.

\*p < 0,05      ∇ p < 0,01      ▼ p < 0,001

vos controles hembras. Las diferencias encontradas siempre son a favor de un mayor número de aciertos en los grupos de tratamiento neonatal y también más aciertos en las hembras control que en los machos, como puede apreciarse en la figura 26.

En cuanto al número de respuestas error (figura 27 ) tampoco hemos encontrado diferencias entre grupos de machos y de hembras, excepto entre machos y hembras controles. Estas diferencias se deben a que la pendiente en el caso de los machos no se distingue de cero y en el caso de las hembras sí.

Con respecto al tratamiento experimental hemos encontrado diferencias entre los machos de los grupos tratados y el control, puesto que la pendiente que presenta el grupo control-machos no es estadísticamente diferente de cero, pues mantiene un número de errores muy estable a lo largo de los doce días de la prueba, por lo que su ajuste a una recta resulta una línea paralela al eje de abscisas, mientras que el ajuste realizado en los demás grupos de machos da como resultado una recta con pendiente diferente de cero.

En el caso de los grupos de hembras, también hemos encontrado diferencias, entre RSC y C ( $p < 0,001$ ), entre SSC y C ( $p < 0,05$ ) y por último entre SC y C ( $p < 0,001$ ). Las comparaciones, en este caso, se han llevado a cabo porque los cuatro grupos presentaban pendientes diferentes de cero.

Tanto para los machos como para las hembras, las diferencias se deben a una disminución drástica en el número de errores realizados en cada prueba apartir del día cuatro.

Haciendo nuevamente un pequeño resumen podemos decir que no hay diferencias significativas debidas al sexo, excepto entre los grupos control, siendo en este caso las hembras las que presentan los valores más bajos en respuestas-error, (figura 27).

Además todos los grupos experimentales RSC, SSC y SC (machos y hembras) difieren de sus respectivos controles (machos y hembras).

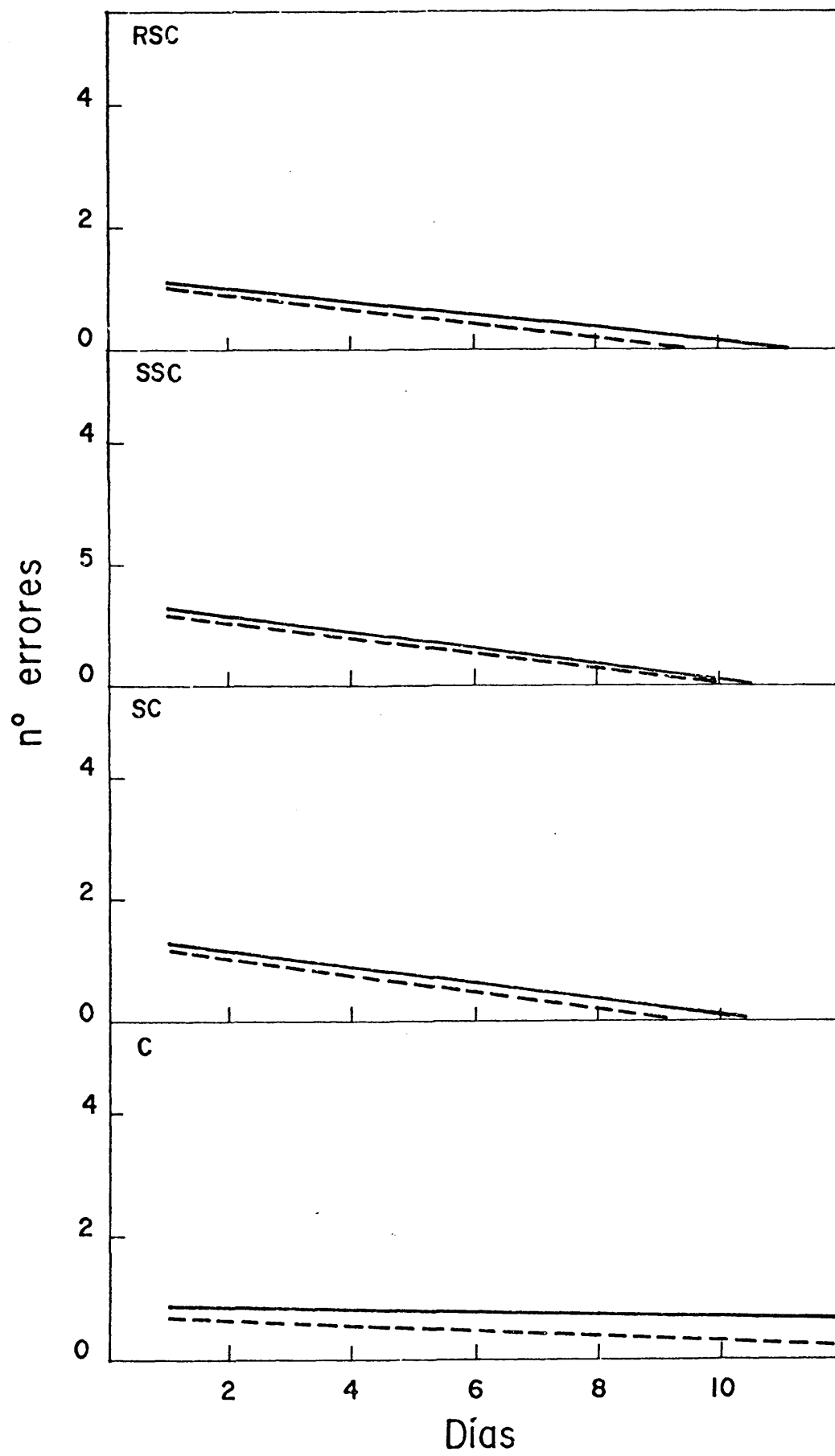


Figura 27.- Fase de aprendizaje en el laberinto.

Se representan las rectas de regresión del número de errores sobre los días de aprendizaje. Las líneas continuas corresponden a los machos y las discontinuas a las hembras. El número medio de errores en cada grupo experimental, el error estándar, las ecuaciones de las rectas y la significación estadística se muestran en la Tabla XX. Condiciones y símbolos como en la figura 26.

TABLA XX

Número de errores de los distintos grupos experimentales durante la fase de aprendizaje en el laberinto

Grupo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
C	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
SC	2 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
♀	SSC	2 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	RSC	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
$y = 0,90 - 0,02x$ $y = 1,47 - 0,14x$ $y = 1,47 - 0,14x$ $y = 1,22 - 0,11x$												
C	1 ± 0	1 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	1 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
SC	2 ± 0	2 ± 0	1 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
♀	SSC	2 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	RSC	2 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
$y = 0,76 - 0,05x$ $y = 1,31 - 0,14x$ $y = 1,27 - 0,12x$ $y = 1,22 - 0,12x$												

Las cifras corresponden al número medio (mas menos el error estándar) de errores observados en cada grupo en la prueba de laberinto (sección II.4.8.). También se da la ecuación de la recta de regresión que mejor se ajusta a los datos experimentales. Condiciones y símbolos como en la Tabla XIX.

\*p < 0,05    ∇ p < 0,01    ▼ p < 0,001

Siendo los grupos tratados (machos y hembras) los que han presentado los valores más bajos de respuestas error, casi desde el primer día de la prueba.

Por otra parte, desde el punto de vista de los efectos de los tratamientos neonatales sobre la velocidad de aprendizaje en laberinto, resulta interesante constatar que el número medio de aciertos de los grupos RSC, SSC y SC machos alcanza un 80% de aciertos de manera estable a partir del día 4 de la fase de adquisición del aprendizaje, condición que no alcanza el grupo control machos hasta el día 11. Este dato meramente empírico pone en evidencia que se ha producido una aceleración en la velocidad de aprendizaje de los grupos tratados neonatalmente. En el caso de las hembras ocurre otro tanto, ya que los grupos RSC, SSC y SC de hembras consiguen el 80% de aciertos estables al tercer día de la prueba mientras que el mismo resultado lo alcanza el grupo de hembras control el día 9.

Por lo que respecta a la variable denominada no-respuesta, no hemos encontrado en esta etapa del aprendizaje diferencias debidas al sexo, excepto en el caso de los grupos SC machos y hembras ( $p < 0,05$ ), pero esta diferencia no parece relevante ya que el rango de magnitud que presenta este parámetro en estos dos grupos es muy bajo y quizá una pequeña diferencia no nos diga nada importante sobre el desarrollo total de la prueba de aprendizaje en dichos grupos experimentales.

Por otra parte, en cuanto a los efectos del tratamiento, hemos encontrado diferencias entre los grupos de machos (RSC, SSC y SC) respecto al control, con un nivel de significación, en los tres casos de ( $p < 0,001$ ). Siempre con un menor número de no-respuestas en los grupos tratados neonatalmente.

Exactamente igual ha ocurrido con los grupos de hembras (RSC, SSC, SC) respecto a su control, siendo el nivel de signifi

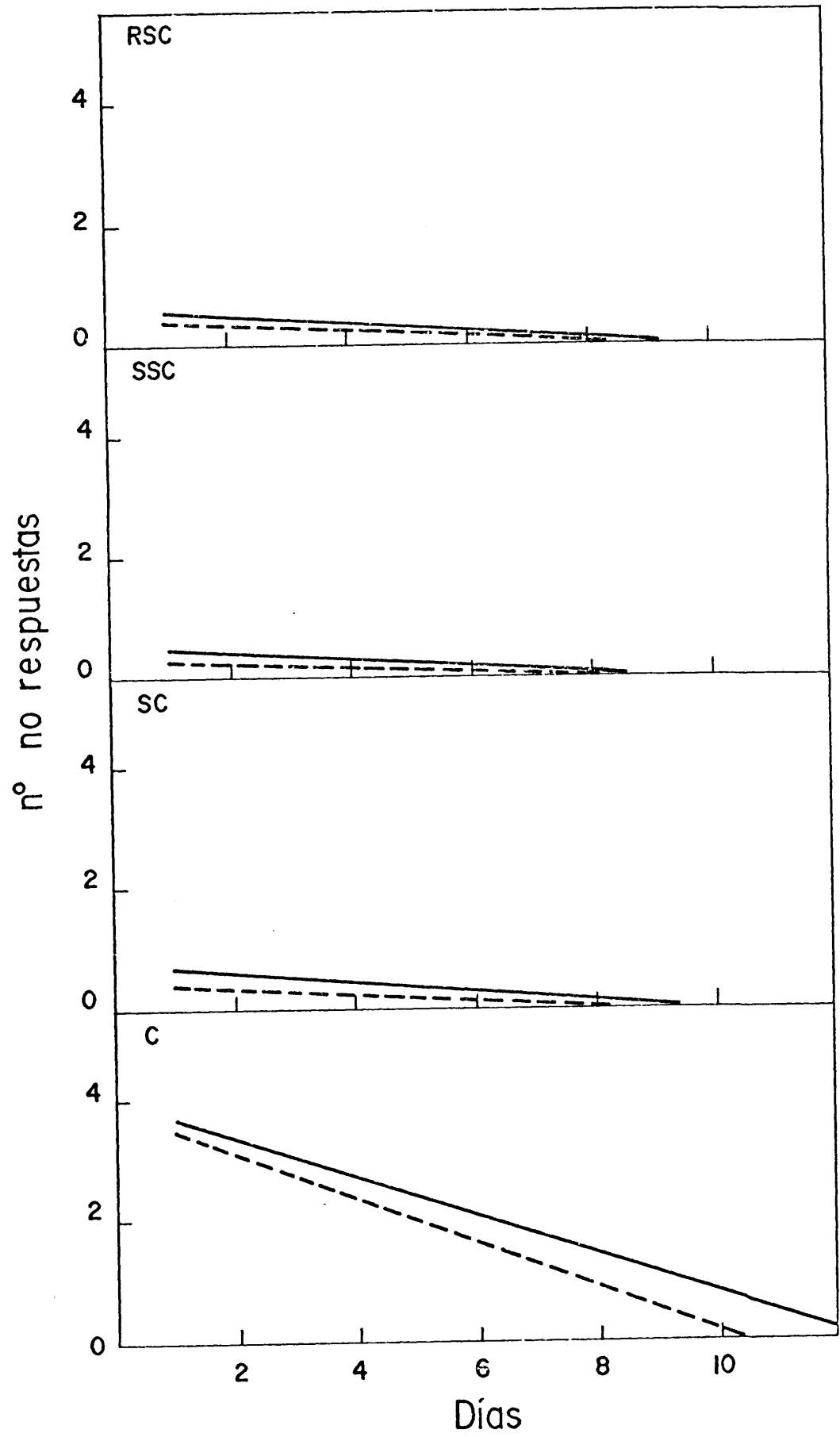




Figura 28.- Fase de aprendizaje en el laberinto.

Se representan las rectas de regresión del número de "no respuestas" sobre los días de aprendizaje. Las líneas continuas corresponden a los machos y las discontinuas a las hembras. El número medio de "no respuestas", el error estándar, las ecuaciones de las rectas y la significación estadística se muestran en la Tabla XXI. Otras condiciones y símbolos como en la figura 26.

TABLA XXI

Número de "no respuestas" de los distintos grupos experimentales durante la fase de aprendizaje en el laberinto

Grupo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
C	3 ± 1	3 ± 1	4 ± 1	3 ± 1	3 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	1 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
SC	1 ± 0	1 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
SSC	1 ± 0	1 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
RSC	2 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
C	4 ± 1	3 ± 1	3 ± 1	3 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	1 ± 0	1 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
SC	1 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
SSC	1 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
RSC	1 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

Las cifras corresponden al número medio (mas menos el error estándar) de "no-respuestas" observadas en cada grupo durante la prueba de laberinto (sección II.4.8.). También se da la ecuación de la recta de regresión que mejor se ajusta a los datos experimentales. Condiciones y símbolos como en la Tabla XIX.

\*p < 0,05      ∇ p < 0,01      ▼ p < 0,001

cación en los tres casos ( $p < 0,001$ ), y siempre a favor de un menor número de no-respuestas en los grupos experimentales.

Haciendo un resumen para los resultados obtenidos en esta variable podemos decir que no hemos encontrado diferencias sexuales, excepto en el grupo SC que podrían deberse al escaso rango de la magnitud medida.

Por otra parte, hay diferencias entre los grupos tratados RSC, SSC y SC, tanto machos como hembras, respecto a sus correspondientes controles, con el mismo nivel de significación estadística en todos los casos ( $p < 0,001$ ), y también siendo siempre los grupos experimentales, machos y hembras, los que presentan los valores más bajos de no-respuestas.

Respecto al tiempo de emergencia (T.E.), los resultados obtenidos se ven reflejados en la figura 29.

No existen diferencias sexuales entre los grupos de tratamiento neonatal, pero sí aparecen entre machos y hembras control, pues para los machos el coeficiente  $a_1$  no es distinguible de cero y en el caso de las hembras es  $a_2$  el que no se diferencia de cero. Siempre son las hembras las que presentan los valores más bajos en tiempo de emergencia.

Los grupos de hembras RSC, SSC y SC son diferentes del control, pues para el grupo control-hembras el coeficiente  $a_2$  no es distinguible significativamente de cero, siendo nuevamente los grupos experimentales los que muestran los valores más bajos de tiempo de emergencia.

Podemos decir en resumen que sólo aparecen diferencias sexuales entre los grupos controles, a favor de menores tiempos de emergencia en las hembras.

También encontramos diferencias debidas al tratamiento entre los machos. Con respecto al coeficiente  $a_2$  aparecen diferencias entre RSC y C ( $p < 0,01$ ), entre SSC y C ( $p < 0,001$ ) y entre SC y C

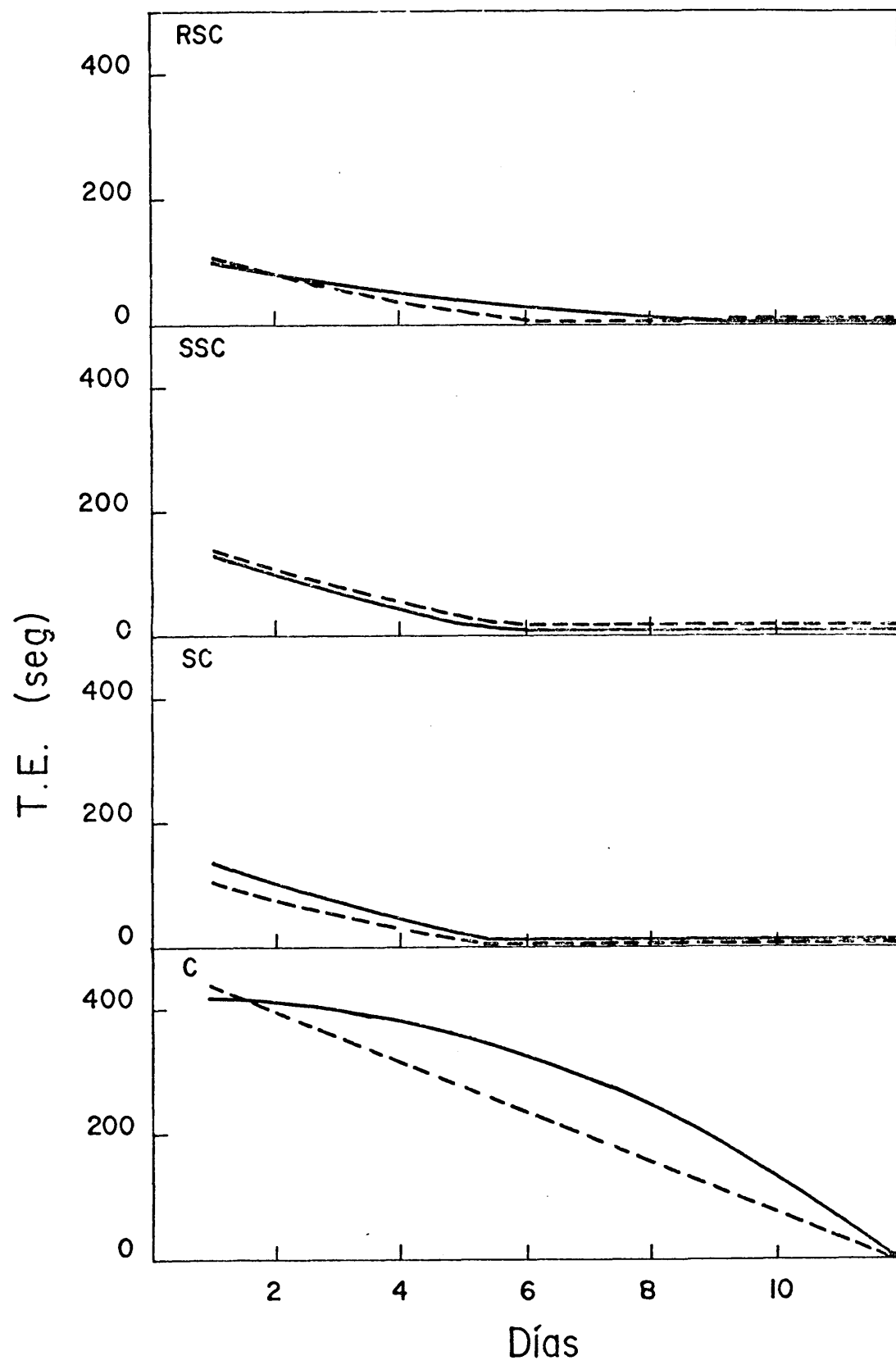


Figura 29.- Fase de aprendizaje en el laberinto.

Se representan las curvas de regresión del tiempo de emergencia (T.E.), definido en el apartado II. 4.8., sobre los días de aprendizaje, tanto para los machos (línea continua), como para las hembras (línea discontinua). El tiempo medio de emergencia para cada grupo experimental, los errores estándar, las ecuaciones de las curvas y la significación estadística se muestran en la Tabla XXII. Otras condiciones y símbolos como en la figura 26.

TABLA XXII

Tiempo de emergencia de los distintos grupos experimentales durante la fase de aprendizaje en el laberinto

Grupo	Días					
	1	2	3	4	5	6
C	381 ± 51	402 ± 63	438 ± 51	425 ± 56	398 ± 52	325 ± 65
SC	175 ± 18	96 ± 23	47 ± 18	28 ± 9	14 ± 5	8 ± 1
SSC	170 ± 45	92 ± 55	25 ± 11	20 ± 6	21 ± 9	8 ± 4
RSC	116 ± 26	65 ± 25	42 ± 19	25 ± 11	22 ± 8	46 ± 28
C	414 ± 49	361 ± 87	381 ± 83	353 ± 85	292 ± 82	232 ± 74
SC	128 ± 25	63 ± 43	59 ± 33	12 ± 3	6 ± 1	6 ± 1
SSC	189 ± 55	77 ± 23	40 ± 12	27 ± 9	16 ± 4	15 ± 3
RSC	158 ± 45	22 ± 8	34 ± 19	28 ± 17	6 ± 2	4 ± 1

TABLA XXII (cont.)

Tiempo de emergencia de los distintos grupos experimentales durante la fase de aprendizaje en el laberinto

Grupo	7	8	9	10	11	12	Curva de regresión
C	263 ± 68	216 ± 54	198 ± 45	107 ± 37	74 ± 22	35 ± 8	y=414,11+ 6,48x - 3,41x <sup>2</sup>
♂ SC	5 ± 1	5 ± 1	4 ± 1	4 ± 1	4 ± 1	3 ± 0	y=186,14- 46,03x + 2,69x <sup>2</sup>
SSC	6 ± 2	7 ± 3	5 ± 2	5 ± 2	2 ± 1	2 ± 1	y=173,2 - 43,01x + 2,52x <sup>2</sup>
RSC	36 ± 22	9 ± 5	4 ± 1	7 ± 4	3 ± 1	5 ± 1	y=112,8 - 21,15x + 1,04x <sup>2</sup>
C	168 ± 70	113 ± 50	87 ± 36	47 ± 22	30 ± 10	22 ± 6	y=478,3 - 43,42x + 0,23x <sup>2</sup>
SC	3 ± 1	3 ± 1	2 ± 1	3 ± 1	1 ± 1	2 ± 1	y=139,2 - 34,4x + 2x <sup>2</sup>
♀ SSC	8 ± 1	6 ± 1	6 ± 1	7 ± 1	6 ± 1	5 ± 1	y=183,95 - 45,5x + 2,7x <sup>2</sup>
RSC	4 ± 2	4 ± 1	4 ± 2	2 ± 1	2 ± 1	1 ± 1	y=135,96- 34,71x + 2,07x <sup>2</sup>

Las cifras corresponden al tiempo de emergencia medio (mas menos el error estándar) calculado para cada grupo experimental en la prueba de laberinto (apartado II.4.8.). Las ecuaciones corresponden a la curva de regresión que mejor se ajusta a los datos experimentales. Condiciones y símbolos como en la Tabla XIX.

\*p < 0,05      ∇ p < 0,01      ▼ p < 0,001

(  $p < 0,001$ ). Por otra parte, el coeficiente  $a_1$  no es comparable pues para el grupo de machos control no se diferencia de cero.

Todos los grupos de hembras (RSC, SSC y SC) son distintos del control-hembras, pues en este grupo el coeficiente  $a_2$  no se diferencia de cero.

Tanto los machos como las hembras de los grupos experimentales han presentado menores T.E. que sus respectivos controles.

El tiempo de ejecución (T.Ej.) en la primera parte de la prueba de aprendizaje (adquisición) no se ha comparado entre los distintos grupos, ya que dicho tiempo de ejecución se estabilizó en diferentes días según los distintos grupos experimentales, coincidiendo con el momento a partir del cual todos los miembros de cada grupo alcanzaban una de las dos metas del laberinto (acuerdo o error) y que para el caso del grupo control-machos fue en el día 12 y en el grupo de hembras control en el día 10. Por lo tanto, el tiempo de ejecución no representa una variable fundamental en esta fase de adquisición del condicionamiento, ya que no puede calcularse en aquellos grupos de menor velocidad de aprendizaje cuyos individuos en la mayor parte de los días no presentan respuestas de llegada a meta (caso de los grupos controles). Por otro lado, se observó en los grupos experimentales que, una vez alcanzado un porcentaje del 100% de aciertos, los tiempos de ejecución disminuyen de manera uniforme.



### III. 7.2.- Período de retención.

En el caso del número de aciertos (respuesta-acierto) realizados por los diferentes grupos de animales en esta segunda etapa del proceso de aprendizaje podemos decir que para todos los grupos, excepto para RSC machos, las pendientes de las rectas a las que se ajustan no son significativamente distinguibles de cero, por lo tanto, podemos decir que no hay diferencias entre ninguno de ellos. Todos retienen casi desde el primer día al 100 % de aciertos.

En el caso del grupo de machos RSC la pendiente de la recta a la que se ajusta es ligeramente distinta de cero, quizá porque el promedio de aciertos obtenido el primer día fue más bajo que en el resto de los días; sin embargo al segundo día ya dieron casi un 100 % de aciertos igual que el resto de los grupos. Tal vez por ello la pendiente sea diferente de cero, pero pensamos que no es suficiente para afirmar que el grupo RSC machos sea claramente distinto del resto de los grupos experimentales en esta variable.

Con todo ello podemos decir en resumen que no hay diferencias claras ni entre sexos ni entre grupos experimentales y controles, teniendo todos los grupos un nivel muy alto de retención de lo aprendido cincuenta días antes.

En cuanto a los resultados obtenidos en esta fase del aprendizaje en el parámetro denominado error (respuesta error), hemos de decir que para todos los grupos experimentales, excepto para los machos RSC, las pendientes de las rectas a las que se han ajustado no son significativamente diferentes de cero, por lo tanto no hay diferencias entre ninguno de ellos, ni debidas al sexo ni al tratamiento experimental.

Se presenta un modelo de resultados inverso al obtenido en respuestas-acierto, comentado anteriormente, es decir, con un valor promedio de errores por grupo muy bajo y siempre en torno a cero, o sea que la capacidad de recuerdo de todos los grupos es prácticamente máxima, por lo que el número de errores en esta fase es casi nulo. El hecho de que en el grupo RSC-machos la pendiente sea distinguible de cero creemos se debe al proceso inverso de lo ocurrido en respuestas-acierto en esta fase de retención, el número de errores en el día 1 es ligeramente mayor que en los demás días, pero dado que los valores son muy próximos a cero y sólo ocurre el primer día para estabilizarse inmediatamente en el día 2, no creemos que sea suficiente para establecer diferencias con el resto de los grupos estudiados.

En el resto de los grupos los valores promedio obtenidos en la respuesta-error en esta fase de retención son muy similares desde el día 1 al 6 y además son muy próximos a cero.

Como ya se ha mencionado anteriormente la capacidad de retención mostrada por todos los grupos a los cincuenta días de finalizado el proceso de adquisición ha sido casi total, de modo que el número de respuestas acierto ha sido máximo, el número de respuestas-error ha sido mínimo, anulándose el número de no-respuestas, que en esta fase ha sido constantemente cero en todos los grupos desde el día 2 (figura 30 y Tablas XXIII-XXIV).

Debido a que el promedio de no-respuestas obtenido por todos los grupos estudiados ha sido cero a partir del día 2 de esta fase, hemos realizado un análisis de varianza para los resultados obtenidos el día 1; dicho análisis ha puesto de manifiesto que no hay diferencias significativas en este día, ni debidas al sexo ni al tratamiento, entre los grupos experimentales y controles y tampoco hay diferencias en el resto de los días pues el número de no-respuestas obtenido se mantuvo estable en el valor cero a lo largo de los cinco días restantes en todos los grupos.

# Aciertos

# Errores

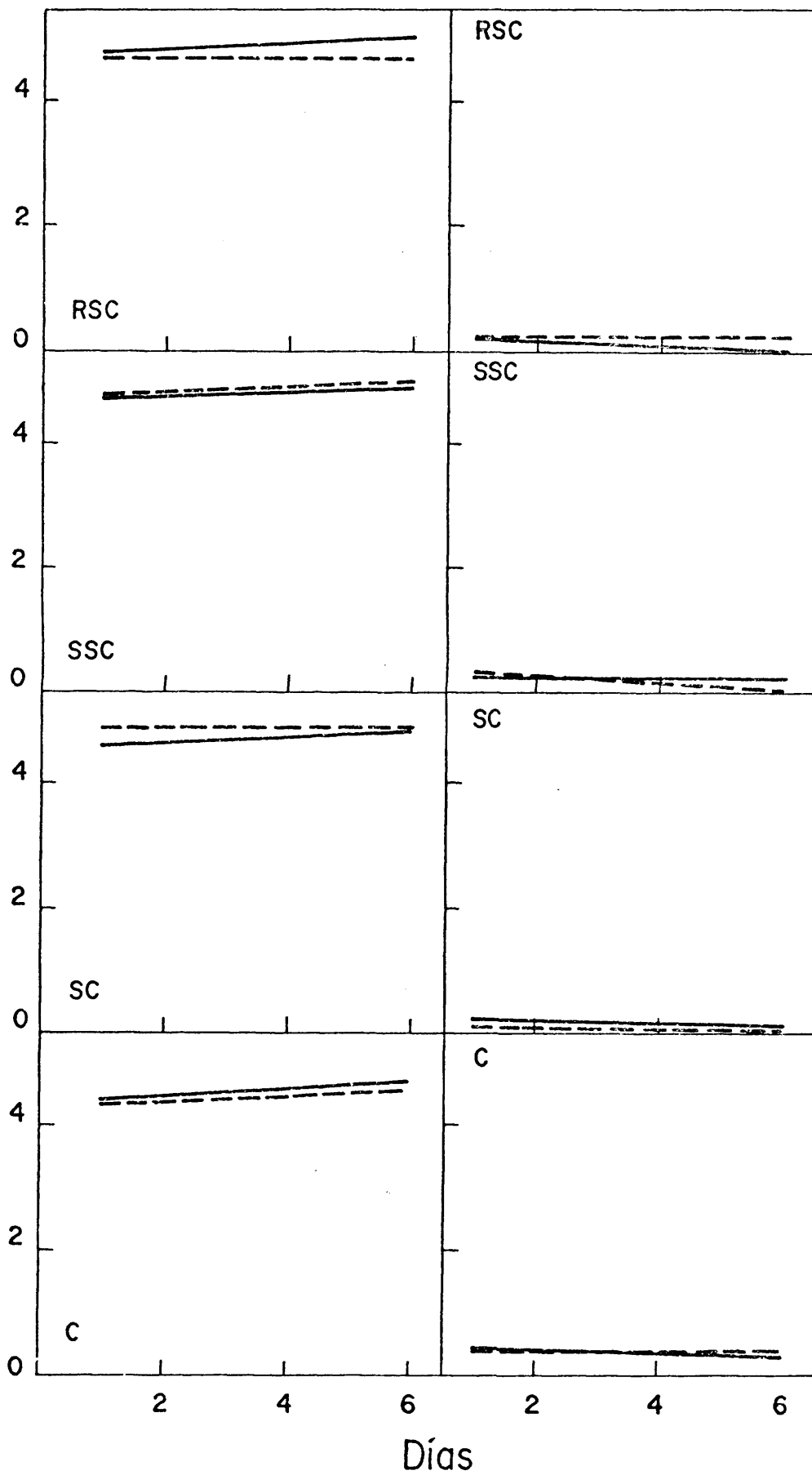


Figura 30.- Fase de retención del aprendizaje en el laberinto.

El comportamiento de los animales en el laberinto, a los 50 días de haber finalizado la fase de aprendizaje, se estudió como se describe en el apartado II. 4.8. En la figura se representan las rectas de regresión del número de aciertos y el número de errores sobre los días de duración de la prueba, para los cuatro grupos experimentales, machos (línea continua) y hembras (línea discontinua). Las medias para cada grupo, los errores estándar, las ecuaciones de las rectas y la significación estadística se muestran en las Tablas XXIII y XXIV. Símbolos como en la Tabla I.

TABLA XXIII

Número de aciertos de los distintos grupos experimentales durante la fase de retención del aprendizaje en el laberinto

Grupo	1	2	3	4	5	6	Recta de regresión
C	4 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	y = 4,36 + 0,06x
♂ SC	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	y = 4,66 + 0,04x
SSC	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	y = 4,79 + 0,01x
RSC	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	y = 4,62 + 0,07x
C	4 ± 0	5 ± 0	4 ± 0	4 ± 0	4 ± 0	5 ± 0	y = 4,33 + 0,05x
SC	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	y = 4,85 + 0,01x
SSC	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	y = 4,66 + 0,05x
RSC	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	y = 4,77 + 0,00x

Las cifras representan el número medio de aciertos (mas menos el error estándar) calculado para cada grupo experimental en la prueba de laberinto (apartado II.4.8.). Las ecuaciones corresponden a la recta de regresión que mejor se ajusta a los datos experimentales. Condiciones y símbolos como en la Tabla XIX.

\*p < 0,05

▽ p < 0,01

▼ p < 0,001

TABLA XXIV

Número de errores de los distintos grupos experimentales durante la fase de retención del aprendizaje en el laberinto

Grupo	1	2	3	4	5	6	Recta de regresión
C	1 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	1 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	y = 0,46 - 0,02x
♂ SC	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	y = 0,27 - 0,03x
SSC	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	y = 0,21 - 0,01x
RSC	1 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	y = 0,38 - 0,07x
C	0 ± 0	0 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	0 ± 0	y = 0,44 - 0,00x
♀ SC	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	y = 0,15 - 0,01x
SSC	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	y = 0,34 - 0,05x
RSC	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	y = 0,23 - 0,00x

Las cifras corresponden al número medio (mas menos el error estándar) de errores observados en cada grupo en la prueba de laberinto (apartado II.4.8.). Las ecuaciones corresponden a la recta de regresión que mejor se ajusta a los datos experimentales. Condiciones y símbolos como en la Tabla XIX.

\*p < 0,05      ∇ p < 0,01      ▼ p < 0,001

Los resultados correspondientes al tiempo de emergencia (T.E.) obtenidos en esta fase indican que no existen diferencias sexuales ni debidas al tratamiento, excepto entre los grupos SC y C de machos y entre SSC y C de hembras.

Este resultado es debido a que todos los grupos presentan los coeficientes  $a_1$  y  $a_2$  con valores no distinguibles de cero estadísticamente, excepto en los grupos SC-machos (con  $a_1$  y  $a_2$  diferentes de cero) y SSC-hembras (con  $a_1$  distinto de cero). Este hecho los hace ya diferentes de todos los demás grupos.

Como la observación de la figura 31 nos hace pensar en la posible existencia de diferencias debidas al tratamiento experimental en ambos sexos pasamos a realizar un estudio del coeficiente independiente  $a_0$ , con el fin de determinar si las curvas con las que estamos tratando son aproximadamente iguales en su trazado pero paralelas, de modo que los grupos control (machos y hembras) presenten unos valores de tiempo de emergencia mucho más altos a lo largo de todos los días, como sugiere la observación de dicha figura.

Después del análisis de dicho coeficiente podemos decir que no hay diferencias sexuales pero que RSC-machos difiere de C ( $p < 0,01$ ) y de SSC ( $p < 0,05$ ). En los grupos de hembras, RSC también es diferente del control ( $p < 0,05$ ) así como el grupo SC, que presenta un valor de  $a_0$  no distinguible de cero mientras que en las hembras control sí lo es.

Con todo ello podemos afirmar que los grupos que no se diferencian en sus coeficientes  $a_1$  y  $a_2$  por tener valores semejantes a cero sí se diferencian en los valores de  $a_0$ , lo cual nos indica que se trata de curvas diferentes pero paralelas.

Los resultados obtenidos el primer día se han analizado además por separado, para saber si ya en el primer día de la fase de recuerdo, cincuenta días después de adquirido el condicionamiento,

ya encontrábamos diferencias entre los grupos estudiados. La prueba aplicada ha sido un análisis de varianza factorial, en el que los factores fijos eran sexo y tratamiento. De este modo hemos podido observar como no existen diferencias sexuales y sí debidas al tratamiento entre los grupos de machos: RSC y C ( $p < 0,01$ ), SSC y C ( $p < 0,01$ ) y SC y C ( $p < 0,05$ ). En el caso de las hembras se ha visto que RSC difiere del control ( $p < 0,01$ ) así como SSC ( $p < 0,05$ ) y SC ( $p < 0,01$ ). Siempre a favor de menores T.E. en los grupos tratados neonatalmente, tanto en machos como en hembras.

Por lo que se refiere al tiempo de ejecución (T.Ej.) medido a partir del día 2, podemos decir en primer lugar, que no hemos encontrado diferencias debidas al sexo y, en segundo lugar, respecto al tratamiento neonatal nuestros resultados indican que el grupo de machos RSC es diferente del control pues éste tiene pendiente cero y aquel no. El trazado de las respuestas emitidas por el grupo control es muy estable a lo largo de los cinco días, como se desprende de la figura 31, mientras que el grupo RSC machos va disminuyendo progresivamente sus tiempos de ejecución hasta el último día.

También hay diferencias entre SC y C machos pues, aunque ambos presentan pendientes con valores no distinguibles de cero, difieren en el coeficiente independiente  $a_0$  ( $p < 0,05$ ).

Entre el grupo SSC de machos y el control no hay diferencias estadísticamente significativas ni en la pendiente que no se distingue de cero en ambos casos, ni en el coeficiente  $a_0$ . Pero hay que señalar que siempre es el grupo SSC el que presenta los valores más bajos, aunque no lleguen a ser significativos.

Por otra parte, todos los grupos de hembras se diferencian del control, así RSC no difiere del control a nivel de la pendiente, que en ambos grupos no se distingue de cero, pero sí lo hacen en el coeficiente  $a_0$  ( $p < 0,05$ ). Tanto SSC como SC son diferentes



T.E.H.

T.E.J.

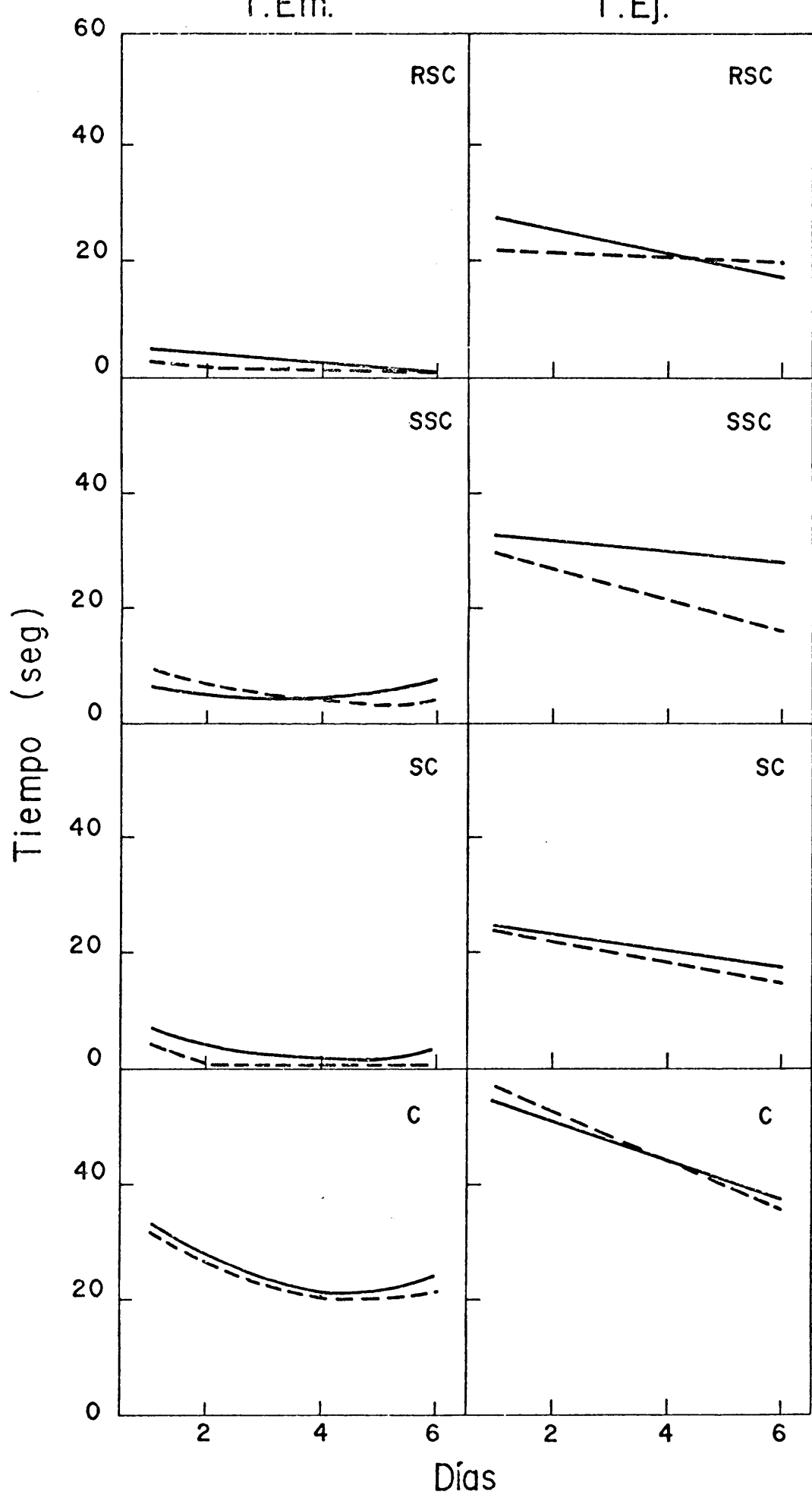


Figura 31.- Fase de retención del aprendizaje en el laberinto.

Se representan las curvas de regresión de los tiempos de emergencia (T.E.) y de ejecución (T.Ej.) sobre los días de duración de la prueba. Las líneas continuas corresponden a los animales machos y las discontinuas a las hembras. Los tiempos medios para cada grupo, los errores estándar, las ecuaciones de las curvas y la significación estadística se muestran en las Tablas XXV y XXVI. Condiciones y símbolos como en la figura 30.

TABLA XXV

Tiempo de emergencia de los distintos grupos experimentales durante la fase de retención del aprendizaje en el laberinto

Grupo	1	2	3	4	5	6	Curva de regresión
C	34 ± 8	27 ± 5	24 ± 6	21 ± 5	25 ± 8	23 ± 9	y = 41,12 - 8,59x + 0,95x <sup>2</sup>
♂ SC	8 ± 4	1 ± 0	1 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	1 ± 1	y = 10,98 - 4*,96x + 0*,60x <sup>2</sup>
SSC	6 ± 2	3 ± 1	5 ± 2	4 ± 2	3 ± 1	7 ± 4	y = 8*,70 - 3,30x + 0,50x <sup>2</sup>
RSC	5 ± 2	4 ± 2	4 ± 1	3 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	y = 5*,80 - 0,80x + 0,01x <sup>2</sup>
C	33 ± 14	25 ± 10	20 ± 6	25 ± 8	19 ± 4	20 ± 8	y = 39,20 - 7,92x + 0,81x <sup>2</sup>
SC	5 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	4 ± 2	2 ± 1	4 ± 3	y = 6*,74 - 2,48x - 0,33x <sup>2</sup>
♀ SSC	10 ± 2	5 ± 2	5 ± 1	5 ± 2	4 ± 1	3 ± 1	y = 12,30 - 3*,50x + 0,34x <sup>2</sup>
RSC	4 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1	y = 4*,79 - 1,60x + 0,20x <sup>2</sup>

Las cifras representan el tiempo de emergencia medio (mas menos el error estándar) calculado para cada grupo experimental en la prueba de laberinto (en segundos), tal y como se describe en el apartado II.4.8. Las ecuaciones corresponden a la curva de regresión que mejor se ajusta a los datos experimentales. Condiciones y símbolos como en la Tabla XIX.

\*p < 0,05      ∇ p < 0,01

▼ p < 0,001

TABLA XXVI

Tiempo de ejecución de los distintos grupos experimentales durante la fase de retención del aprendizaje en el laberinto

Grupo	2	3	4	5	6	Recta de regresión
C	52 + 9	47 + 8	46 + 12	41 + 7	39 + 8	y = 57,96 - 3,29x
SC	26 + 5	19 + 1	24 + 5	16 + 2	19 + 3	y = 27,04 - 1,59x
SSC	34 + 4	29 + 4	30 + 4	30 + 3	29 + 2	y = 34,04 - 0,96x
RSC	26 + 4	24 + 5	21 + 3	22 + 3	16 + 2	y = 30,60 - 2,18x
C	55 + 15	50 + 11	42 + 7	42 + 11	37 + 13	y = 62,44 - 4,36x
SC	23 + 1	20 + 1	20 + 5	15 + 1	16 + 3	y = 25,90 - 1,80x
SSC	29 + 2	22 + 2	23 + 3	18 + 1	17 + 1	y = 33,06 - 2,83x
RSC	19 + 2	23 + 3	28 + 6	19 + 4	19 + 5	y = 22,24 - 0,18x

Las cifras representan el tiempo de ejecución medio en segundos (mas menos el error estándar) calculado para cada grupo experimental en la prueba de laberinto, como se describe en el apartado II.4.8. Las ecuaciones corresponden a la recta de regresión que mejor se ajusta a los datos experimentales. Condiciones y símbolos como en la Tabla XIX.

\*p < 0,05    ∇ p < 0,01    ▼ p < 0,001

del control porque presentan pendientes diferentes de cero, mientras que la del control no lo es.

Las diferencias encontradas siempre son a favor de una mayor lentitud en el desarrollo de la prueba ( aunque lleguen a producirse aciertos) por parte de los controles machos y hembras.

En resumen, podemos decir que los grupos RSC y SC de machos difieren del control, pero SSC-machos no lo hace, aunque siempre ha presentado valores más bajos. Además todos los grupos de hembras difieren de su control.

No hemos encontrado diferencias debidas al sexo que resulten significativas en esta variable durante la fase de retención.

En la fase de adquisición del aprendizaje, todos los grupos experimentales tanto machos como hembras, han adquirido el condicionamiento mucho más rápidamente que los controles, presentando en concreto un número de aciertos muy elevado ya en los días 2-3 (80 % de aciertos estabilizados al cuarto día), mientras que disminuía con la misma velocidad el número de errores. Al mismo tiempo, las no-respuestas han sido muy bajas desde el día 2. De este modo, este parámetro parece indicar que los grupos experimentales han dado una respuesta menos emotiva que los controles durante esta prueba. Así, los animales tratados neonatalmente han presentado una menor reacción neofóbica desde el primer día de prueba, abandonando con mayor rapidez la caja de salida y mostrando mayor capacidad de exploración en el recinto experimental. De este modo las posibilidades de encontrar la meta correcta y obtener el refuerzo alimenticio han sido mayores en los animales tratados que han presentado una mayor velocidad de aprendizaje (respuestas-acierto) y han disminuido su tasa de errores.

Estos resultados coinciden con los obtenidos por otros autores como Levine (161) y Denenberg (73) empleando en ambos casos un tratamiento neonatal de manipulación de los individuos, y obteniendo en la etapa adulta una mejora en los procesos de aprendizaje. También coinciden con los de Thinus-Blanc (266) empleando hamsters y con los obtenidos por Oliverio (211) utilizando ratones.

En cuanto al T.E. también hemos encontrado que los grupos experimentales, tanto machos como hembras, presentan unos tiempos de salida desde la caja al recinto experimental muy bajos. De este modo también cabe pensar que los animales tratados en la infancia presentan unos niveles emotivos o de temerosidad al medio muy bajos frente a los controles que tardan mucho más tiempo en salir de la caja de salida y explorar el recinto desconocido y potencialmente adverso. Nuestros resultados en este parámetro coinciden con los obtenidos por Hunt y Otis (citados en la ref. 73) ya que ellos encontraron que los animales sometidos a situaciones adversas en la etapa neonatal y sometidos posteriormente en la edad adulta a lo que ellos denominaron "prueba de temerosidad", presentaban también tiempos muy bajos de salida desde la caja inicial al recinto exterior.

Nuestros resultados , empleando un tratamiento de larga duración (23 días de cría), también coinciden con los obtenidos por Denenberg (73) empleando un tratamiento de manipulación de corta duración, en concreto durante los primeros diez días de vida postnatal. También están de acuerdo con los obtenidos por Denenberg y Kline (citados en la ref. 73), utilizando esta vez un tratamiento de shock eléctrico durante los primeros cinco días de vida postnatal. En ambos casos los mencionados autores encontraron una mejora en la velocidad de aprendizaje de los individuos sometidos a situaciones adversas en la infancia respecto a los controles.

Por otra parte, nuestro tratamiento coincide en el tiempo con el período crítico neonatal para la diferenciación sexual del cerebro, como hemos venido repitiendo varias veces a lo largo de este trabajo. De este modo era previsible que el tratamiento neonatal afectara más a los machos que a las hembras tal como parece que efectivamente ocurre. En este sentido podemos comentar que mientras aparecen diferencias sexuales entre los grupos control en respuestas-acierto, respuestas-error y tiempo de emergencia en la fase de adquisición del aprendizaje, a favor de mayor número de aciertos y menor número de errores junto con tiempos de emergencia más bajos para las hembras control, no encontramos en cambio diferencias sexuales entre ninguno de los grupos tratados en la infancia. Este hecho es debido a que los machos se aproximan mucho a las respuestas de las hembras, anulándose por tanto las diferencias sexuales. De este modo podemos pensar que aunque el tratamiento neonatal afecte a ambos sexos, mejorando la adquisición de un aprendizaje de discriminación, son los machos los individuos más afectados.

Finalmente nos referiremos a los resultados obtenidos en la segunda fase del aprendizaje, el período de retención. En principio sería posible suponer que la fase de retención supusiera para los animales un menor nivel de estrés y temerosidad. Una vez que dichos individuos hubieran realizado una correcta adquisición del condicionamiento, el hecho de colocarlos nuevamente ante una situación conocida, en un medio ambiente conocido, era de esperar que indujera una menor respuesta de estrés, ya que la prueba pierde en gran medida su carácter neofóbico. Así, sería pensable que disminuyeran las diferencias sexuales entre los grupos e incluso que desaparecieran algunas de las diferencias debidas al tratamiento neonatal. Nuestros resultados apoyan esta hipótesis en varios aspectos, el primero es que no hemos encontrado diferencias sexua

les en ninguno de los parámetros medidos y, en segundo lugar, tampoco hemos encontrado diferencias debidas al tratamiento ni en respuestas-acierto, ni en respuestas-error ni en no-respuestas, ya que todos los grupos de animales respondieron casi desde el primer día con un 100 % de aciertos.

Las únicas variables que pondrían a prueba la respuesta emotiva en esta fase del aprendizaje serían el T.E. y el T.Ej., es decir, el tiempo empleado en aventurarse a explorar y salir desde la caja inicial al recinto del laberinto propiamente dicho y el tiempo consumido en recorrerle. En ambos parámetros han sido los grupos experimentales (machos y hembras) más rápidos que los controles, de forma que salían antes del recinto experimental y recorrían más rápidamente el camino hacia el brazo terminal del laberinto que contenía el refuerzo alimenticio.

Podemos decir finalmente, que nuestros resultados parecen indicar que los grupos sometidos a determinadas situaciones adversas (físicas o sociales) en la época neonatal presentan, en general, una mejor respuesta adaptativa ante la situación de estrés neofóbico y conflicto que se les ha presentado en el diseño experimental de discriminación, que hemos empleado en nuestro trabajo de aprendizaje en laberinto, utilizando un condicionamiento alimenticio.



### III. 8.- PRUEBA DE APRENDIZAJE DE EVITACION ACTIVA EN CAJA DE MOWRER-MILLER.

Los resultados obtenidos en esta prueba se pueden ver representados en las figuras 32-37 y en las Tablas XXVII-XXXII.

#### III. 8.1.- Período de adquisición.

Vamos a comentar brevemente los resultados obtenidos en las diferentes respuestas motoras medidas en esta prueba de aprendizaje, así como la tasa de defecaciones registrada.

En cuanto a la respuesta escape, hemos encontrado diferencias sexuales en todos los grupos, siendo el desarrollo de la prueba a lo largo de los diez días establecidos muy diferente en machos y en hembras.

En los grupos de machos las respuestas obtenidas las hemos ajustado a una recta, como puede verse en la figura 32, pues el trazado de respuestas a lo largo del tiempo así lo exigía, en cambio en las hembras las respuestas escape obtenidas en esta etapa del aprendizaje eran totalmente distintas y su trazado se ajustaba mejor a curvas, parábolas en nuestro caso, como puede verse en la figura 32.

Por todo ello podemos decir que existen diferencias entre machos y hembras, de manera que éstas disminuyen con el tiempo mucho más rápidamente el número de escapes, en favor de un aumento del número de evitaciones, para estabilizar esta respuesta en un número muy bajo de días; mientras que los machos disminuyen el número de escapes, en favor de un aumento de las evitaciones, de forma mucho más gradual, estabilizándose esta respuesta al final del período de adquisición.

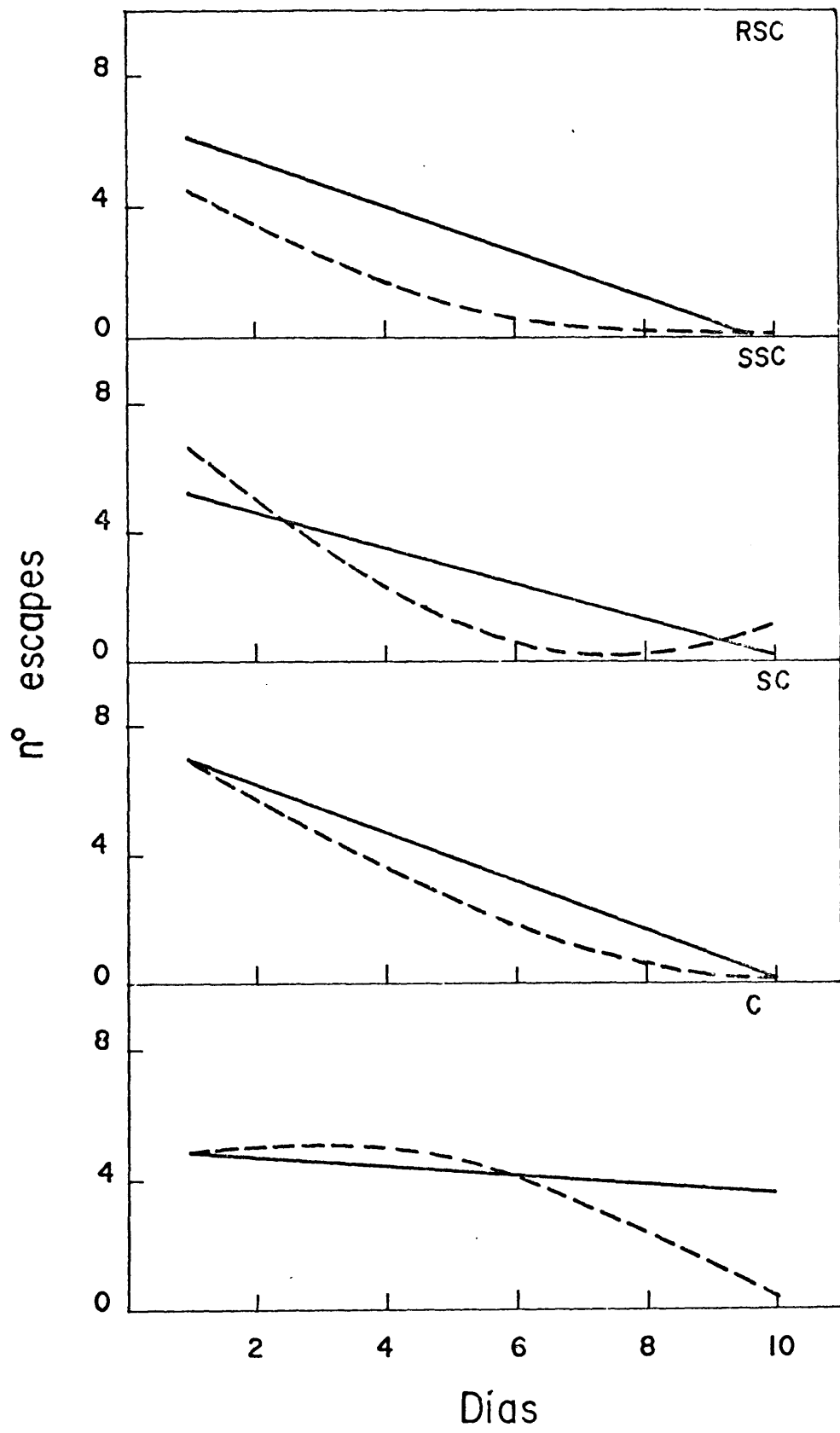


Figura 32.- Fase de adquisición del condicionamiento de evitación activa.

Los animales fueron entrenados en una caja Mower-Miller, de los 80 a 90 días de edad, como se describe en el apartado II. 4.9. En la figura se representan las curvas de regresión del número de "escapes" sobre los días de aprendizaje, en línea continua los valores correspondientes a los machos y en línea discontinua los de las hembras. Los valores medios para cada grupo, el error estándar, las ecuaciones de las curvas y la significación estadística se muestran en la Tabla XXVII . Otros símbolos como en la Tabla I.

TABLA XXVII

Número de "escapes" de los distintos grupos experimentales durante la fase de adquisición del condicionamiento de evitación activa

Grupo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Días										
C	4 + 1	4 + 1	5 + 0	6 + 1	5 + 1	5 + 1	5 + 1	4 + 1	3 + 1	3 + 1
	$y = 5,10 - 0,16x$									
SC	7 + 1	6 + 1	6 + 1	5 + 1	4 + 1	2 + 1	2 + 1	1 + 0	2 + 1	1 + 0
	$y = 7,73 - 0,76x$									
SSC	4 + 1	5 + 1	5 + 1	4 + 1	4 + 1	3 + 1	1 + 1	1 + 0	0 + 0	1 + 0
	$y = 5,80 - 0,57x$									
RSC	7 + 1	5 + 0	4 + 1	3 + 1	3 + 1	2 + 1	2 + 1	2 + 1	1 + 1	1 + 1
	$y = 6,69 - 0,67x$									
C	4 + 1	5 + 1	6 + 1	5 + 1	4 + 1	4 + 1	3 + 1	2 + 1	1 + 0	1 + 0
	$y = 4,43 + 0,50x - 0,09x^2$									
SC	6 + 1	7 + 1	5 + 1	3 + 1	2 + 1	2 + 1	1 + 0	1 + 0	0 + 0	0 + 0
	$y = 8,32 - 1,44x + 0,06x^2$									
SSC	7 + 1	5 + 1	3 + 1	2 + 1	1 + 0	0 + 0	1 + 0	0 + 0	1 + 0	0 + 0
	$y = 8,88 - 2,29x + 0,15x^2$									
RSC	5 + 1	3 + 1	3 + 1	1 + 0	1 + 1	1 + 1	1 + 0	0 + 0	0 + 0	0 + 0
	$y = 5,71 - 1,34x + 0,08x^2$									

Las cifras representan el número medio de "escapes" (mas menos el error estándar) calculado para cada grupo experimental en la prueba de evitación activa (apartado II.4.9.). Las ecuaciones corresponden a las curvas de regresión que mejor se ajustan a los datos experimentales. Los símbolos sobre los parámetros de las curvas indican diferencias estadísticamente significativas respecto a los grupos control. Otros símbolos como en la Tabla I.

\*p < 0,05    ▽ p < 0,01    ▼ p < 0,001

Por todo lo expuesto anteriormente podemos decir que el desarrollo de la prueba de aprendizaje (fase de adquisición) respecto a la respuesta escape es diferente en machos y en hembras.

En cuanto al efecto del tratamiento hay que señalar que en el caso de los machos, una vez comprobado que las pendientes de cada grupo eran diferentes de cero, pasamos a comparar los grupos a través de una prueba "t", obteniéndose que los tres grupos de tratamiento RSC ( $p < 0,01$ ), SSC ( $p < 0,05$ ) y SC ( $p < 0,01$ ) presentaban diferencias respecto al control, ya que estos tres grupos experimentales comienzan dando un número de respuestas alto y van disminuyendo el número de escapes a lo largo de los diez días del período de adquisición, en favor de ir aumentando el número de evitaciones, mientras que el grupo control mantiene unos valores para la respuesta escape bastante estables durante toda esta fase. De este modo, se puede afirmar que los grupos tratados adquieren antes el condicionamiento de evitación activa.

En los grupos de hembras hemos encontrado que existen diferencias entre cada grupo experimental RSC, SSC y SC y el control, pues para este último el coeficiente  $a_1$  no es distinguible estadísticamente de cero, mientras que en los demás grupos sí lo es. Además, para el coeficiente  $a_2$ , que en los cuatro grupos es diferente de cero, encontramos que RSC difiere de C ( $p < 0,001$ ) así como SSC ( $p < 0,05$ ) y SC ( $p < 0,001$ ). Si observamos la figura 32 podemos ver como los tres grupos experimentales de hembras comienzan dando un número elevado de respuestas escape, para ir disminuyéndolo a lo largo de los días hasta alcanzar valores muy próximos a cero, como valor promedio por grupo. En el control también se puede observar ese descenso pero en este caso es mucho más gradual y paulatino. Los grupos experimentales, por ejemplo, en el día 5 de la prueba (la mitad del período de adquisición) presentan ya unos valores medios muy bajos de escapes, que son próximos a cero en los grupos RSC y SSC y en torno a 2 en SC; mientras que el gru

po control en ese mismo día presenta una media de 4.

De esta forma podemos decir que aunque todos los grupos experimentales presentan una buena capacidad de aprendizaje, no to dos lo hacen con la misma velocidad, siendo los grupos RSC y SSC los que adquieren antes el condicionamiento de evitación y ocupando el grupo SC una posición intermedia entre los anteriores y el control.

En la respuesta evitación hemos encontrado diferencias sexua les en los grupos RSC ( $p < 0,05$ ), SSC ( $p < 0,001$ ) y C ( $p < 0,05$ ), siendo en todos los casos las hembras las que tienen una adquisición más rápida de esta respuesta.

Por otra parte, todos los grupos de machos presentan diferencias significativas respecto al control, RSC ( $p < 0,05$ ), SSC ( $p < 0,05$ ) y SC ( $p < 0,05$ ). Estos resultados se explican como complemento de los obtenidos en la respuesta escape, ya que el grupo C presentó unos valores aproximadamente estables de dicha respuesta y ahora sus valores medios de evitaciones se han visto disminuidos. De esta manera, en el grupo C machos el 100 % de respuestas emitidas al final de la fase de adquisición se han repartido entre es capes y evitaciones en vez de volcarse hacia las evitaciones como ha ocurrido en los grupos tratados.

Entre los grupos de hembras, RSC ( $p < 0,05$ ) y SSC ( $p < 0,001$ ) difieren del control, adquiriendo rápidamente un número de respuestas máximo, mientras que los grupos SC y C no se diferencian estadísticamente y ambos presentan una adquisición del condicionamiento más gradual.

En el caso concreto de las hembras, nos hemos referido al período día 1 - día 6, pues desde el día 6 al 10 en los grupos RSC y SSC la pendiente es cero, lo que supone un 100 % de evitaciones, y esto es diferente de lo que sucede en los grupos SC y C, en los que la pendiente es diferente de cero durante este período y, además, dichos grupos (SC y C) no presentan diferencias

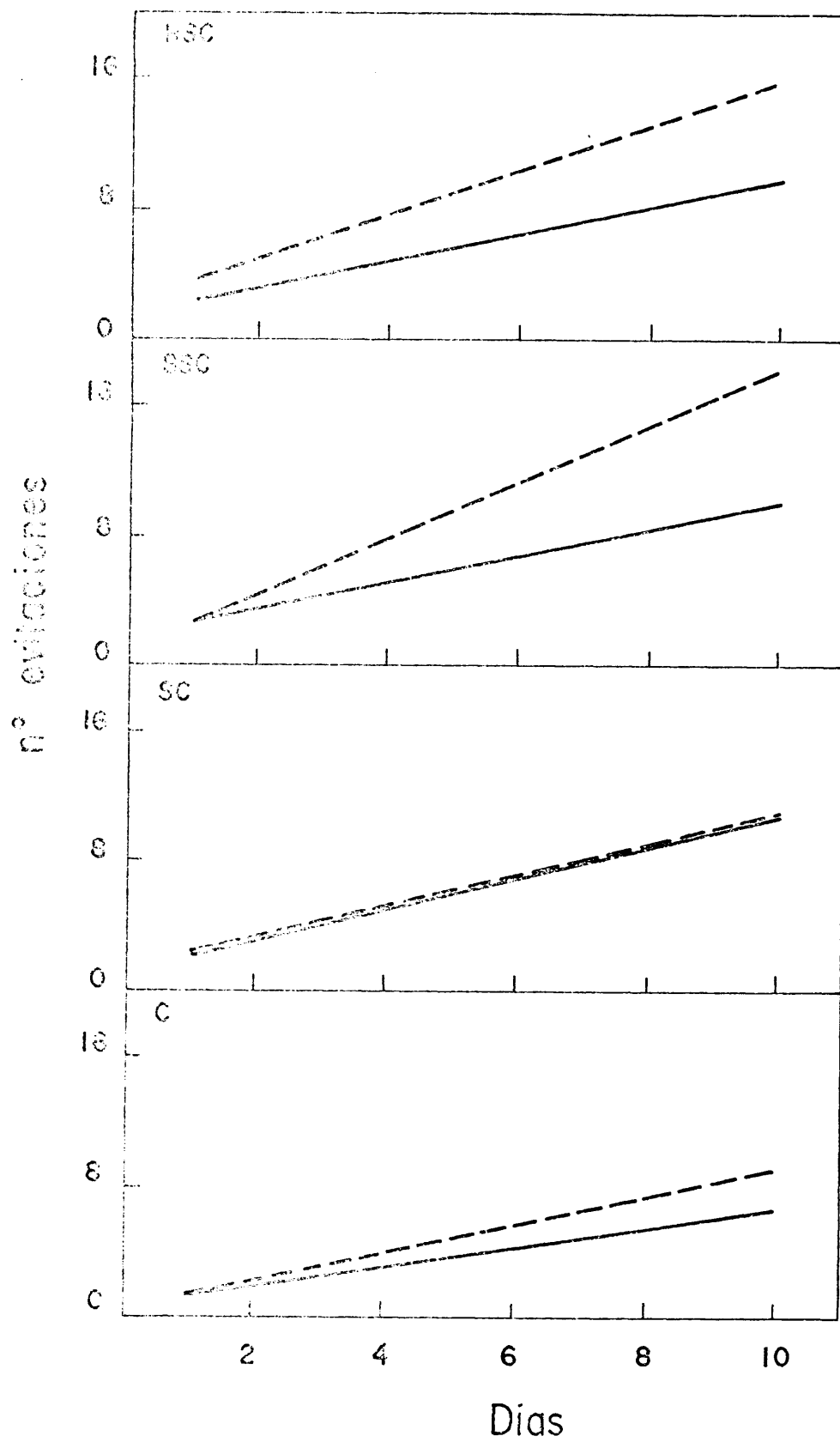


Figura 33.- Fase de adquisición del condicionamiento de evitación activa.

Se representan las rectas de regresión del número de "evitaciones" sobre los días de aprendizaje, con línea continua para los machos y discontinua para las hembras. El número medio para cada grupo, los errores estándar, las ecuaciones de las rectas y la significación estadística se muestran en la Tabla XXVIII. Condiciones y símbolos como en la figura 32.



TABLA XXVIII

Número de "evitaciones" de los distintos grupos experimentales durante la fase de adquisición del condicionamiento de evitación activa

Grupo	Días									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
C	1 + 0	2 + 0	3 + 1	3 + 1	4 + 1	5 + 1	5 + 1	5 + 1	6 + 1	6 + 1
					$y = 0,76 + 0,58x$					
SC	1 + 0	2 + 0	3 + 1	5 + 1	7 + 1	8 + 1	8 + 1	9 + 0	9 + 1	9 + 0
					$y = 1,41 + 0,95x$					
SSC	2 + 1	5 + 1	5 + 1	6 + 1	6 + 1	7 + 1	9 + 1	10 + 0	10 + 1	9 + 0
					$y = 2,19 + 0,82x$					
RSC	1 + 0	4 + 1	5 + 1	5 + 1	6 + 1	7 + 1	8 + 1	8 + 1	9 + 1	9 + 1
					$y = 1,43 + 0,86x$					
C	1 + 1	3 + 1	3 + 1	4 + 1	5 + 1	6 + 1	7 + 1	7 + 1	8 + 1	9 + 0
					$y = 0,63 + 0,86x$					
SC	1 + 0	2 + 1	5 + 1	7 + 1	8 + 1	9 + 1	9 + 0	9 + 0	10 + 0	10 + 0
					$y = 1,36 + 0,99x$					
SSC	2 + 1	5 + 1	7 + 1	8 + 1	9 + 0	10 + 0	10 + 0	10 + 0	10 + 0	10 + 0
					$y = 0,96 + 1,74x$					
RSC	2 + 1	5 + 1	7 + 1	9 + 0	9 + 1	9 + 1	10 + 0	10 + 0	10 + 0	10 + 0
					$y = 2,29 + 1,35x$					

Las cifras corresponden al número medio de "evitaciones" (mas menos el error estándar) calculado para cada grupo experimental en la prueba de evitación activa (apartado II.4.9.). Las ecuaciones corresponden a las rectas de regresión que mejor se ajustan a los datos experimentales. Condiciones y símbolos como en la Tabla XXVII.

\* $p < 0,05$   $\nabla p < 0,01$   $\blacktriangledown p < 0,001$

entre sí, no sólo en este tramo de la curva de aprendizaje sino que en toda ella, es decir, que en los diez días de la fase de adquisición los grupos SC y C hembras no difieren estadísticamente en ningún momento.

Por lo que se refiere al número de defecaciones registradas en cada grupo durante el desarrollo de la prueba, podemos decir que hemos encontrado diferencias sexuales entre los grupos SSC ( $p < 0,001$ ) y SC ( $p < 0,05$ ), presentando pendientes significativamente distintas y siendo las hembras las que tienen unos valores medios más bajos. También existen diferencias entre los grupos control, pues el control-machos tiene una pendiente no distinguible de cero, mientras que en el control hembras sí es diferente de cero. El desarrollo de este parámetro es totalmente diferente en ambos, pues como puede verse en la figura 34 las hembras muestran un descenso notorio en el número de defecaciones desde el día 1 al día 10, presentando en cambio los machos un valor medio de defecaciones aproximadamente estable a lo largo de los 10 días.

No hemos encontrado diferencias entre los grupos RSC de machos y de hembras, pues en ambos casos se parte de valores semejantes desde el día 1 y van disminuyendo poco a poco hasta el día 10, en el que en ambos grupos el promedio para esta variable es aproximadamente cero.

Por lo que se refiere al tratamiento, todos los grupos experimentales de machos presentan una pendiente significativamente distinta de cero, por lo que se diferencian del control, que posee una pendiente no distinguible de cero.

El hecho de que el grupo de machos control presente una pendiente no distinguible de cero nos indica que poseen un desarrollo uniforme respecto al número de defecaciones, a lo largo de estos 10 días de la fase de adquisición, sin disminuir sus niveles de defecaciones con el número de ensayos, al menos de forma estadís-

n° defecaciones

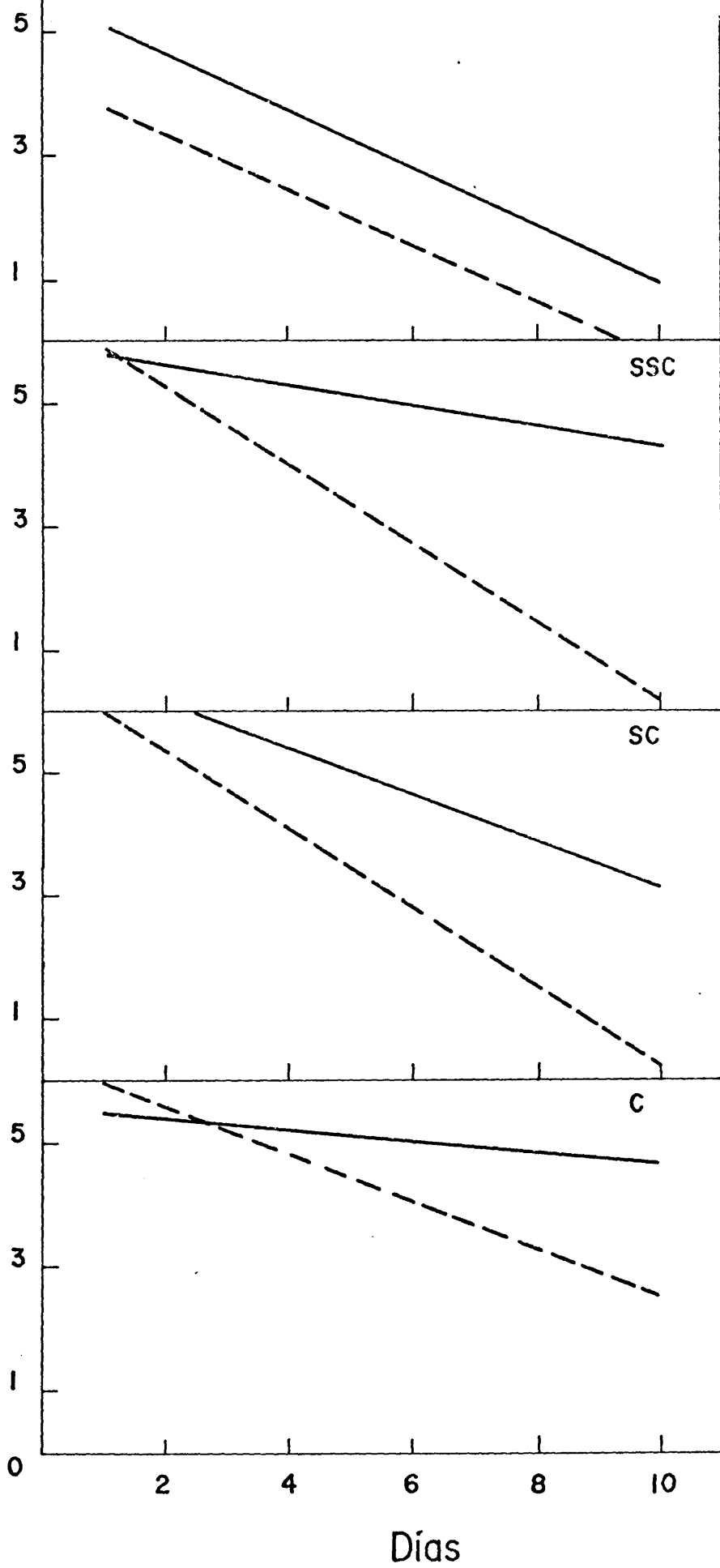


Figura 34.- Fase de adquisición del condicionamiento de evitación activa.

Se representan las rectas de regresión del número de defecaciones sobre los días de aprendizaje, en línea continua para los machos y discontinua para las hembras. El número medio de defecaciones en cada grupo, el error estándar, las ecuaciones de las rectas y la significación estadística se muestran en la Tabla XXIX. Condiciones y símbolos como en la figura 32.

TABLA XXIX

Número de defecaciones de los distintos grupos experimentales durante la fase de adquisición del condicionamiento de evitación activa

Grupo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
C	6 + 1	4 + 1	6 + 0	5 + 1	5 + 1	5 + 1	5 + 1	5 + 1	4 + 1	5 + 1
				y = 5,53 - 0,08x						
SC	6 + 1	6 + 1	6 + 1	7 + 1	7 + 1	5 + 1	4 + 1	5 + 1	2 + 1	3 + 1
				y = 6,97 - 0,38x						
SSC	5 + 1	5 + 1	6 + 1	6 + 1	6 + 1	5 + 1	5 + 1	5 + 1	3 + 1	4 + 1
				y = 5,92 - 0,15x						
RSC	4 + 1	5 + 1	5 + 1	4 + 1	4 + 1	3 + 1	2 + 1	2 + 1	1 + 1	1 + 0
				y = 2,58 - 0,46x						
C	5 + 1	6 + 1	6 + 1	5 + 1	5 + 1	4 + 1	4 + 1	4 + 1	2 + 1	3 + 1
				y = 6,41 - 0,38x						
SC	5 + 1	6 + 1	7 + 1	5 + 1	4 + 1	2 + 1	2 + 1	2 + 1	1 + 1	0 + 0
				y = 6,76 - 0,65x						
SSC	6 + 1	4 + 0	6 + 1	5 + 1	3 + 1	4 + 1	2 + 1	0 + 0	1 + 1	1 + 0
				y = 6,61 - 0,63x						
RSC	4 + 1	4 + 1	4 + 1	2 + 1	1 + 1	1 + 1	1 + 1	1 + 1	1 + 1	0 + 0
				y = 4,23 - 0,44x						

Las cifras corresponden al número medio de defecaciones (mas menos el error estándar) calculado para cada grupo experimental en la prueba de evitación activa (apartado II.4.9.). Las ecuaciones corresponden a las rectas de regresión que mejor se ajustan a los datos experimentales. Condiciones y símbolos como en la Tabla XXVII.

\*p < 0,05      ∇ p < 0,01      ▼ p < 0,001

ticamente significativa, mientras que en los grupos experimentales se observa un descenso importante desde el día 1 al día 10.

En cuanto a las hembras, sólo los grupos SSC ( $p < 0,05$ ) y SC ( $p < 0,01$ ) difieren del control, mientras que el grupo RSC no presenta diferencias significativas. Los dos grupos de tratamiento SSC y SC muestran un descenso rápido del número de defecaciones alcanzando niveles muy bajos en los últimos días. Entre los grupos RSC y C, es siempre el RSC el que presenta los valores más bajos, y el hecho de que no aparezcan diferencias entre ellos puede deberse a que sus valores se ajusten a dos rectas paralelas, con la misma pendiente, pero siendo el grupo RSC el que muestra siempre los valores menores.

Podemos decir, en resumen, que hemos encontrado diferencias sexuales en todos los grupos para las respuestas escape, evitación y en defecaciones, excepto para SC en evitaciones y para RSC en defecaciones.

Por otra parte, los tres grupos experimentales de machos (RSC, SSC, SC) han presentado diferencias significativas respecto al control en escapes, evitaciones y en defecaciones.

Por su parte, los grupos de hembras también han diferido del control en escapes, evitaciones y en defecaciones, excepto el grupo SC en la respuesta de evitación y el RSC en defecaciones.

Todas las diferencias encontradas entre los grupos de tratamiento y los controles apuntan hacia una mejor o más rápida adquisición del condicionamiento por parte de los grupos experimentales tanto machos como hembras. En cuanto a las diferencias debidas al sexo aparecidas en los diferentes grupos, éstas han apuntado de forma consistente hacia una mayor capacidad de las hembras en la adquisición de este condicionamiento de evitación activa.

### III. 8.2.- Período de retención.

Los resultados obtenidos en la fase de retención, realizada cincuenta días después de finalizada la fase de adquisición del condicionamiento y con una duración de cinco días, se ven representados en las figuras 35-37 y en las Tablas XXX-XXXII.

En las respuestas escape hemos encontrado diferencias sexuales en los grupos RSC y C, pues en ambos casos los machos presentan una pendiente estadísticamente distinta de cero y las hembras no, en ambos casos son las hembras las que presentan unos menores valores de respuesta escape. Entre machos y hembras SC también hay diferencias, en este caso la pendiente no es distinguible de cero para los machos y sí lo es para las hembras, de modo que los machos presentan un desarrollo uniforme de la respuesta a lo largo de los cinco días, mientras que en las hembras dicha respuesta va disminuyendo.

El grupo SSC no presenta diferencias sexuales, tanto los machos como las hembras tienen unos valores muy bajos y estables.

En cuanto a los efectos del tratamiento, podemos decir, que en los animales machos todos los grupos experimentales difieren del control. En el caso de SSC y SC porque presentan una pendiente que no se distingue de cero, mientras que en los controles sí es distinta de cero, así ambos grupos SSC y SC presentan una trayectoria de respuestas paralela al eje de abscisas y con valores medios muy bajos. El grupo RSC tiene una pendiente diferente de cero, igual que el control, pero mientras la pendiente de RSC es negativa la del control es positiva. Es decir, que el grupo control-machos no sólo no disminuye el número de respuestas escape en el tiempo, como era de esperar, sino que mantienen estable dicha respuesta durante cuatro días y el último, quizás por azar, se eleva ligeramente pero lo suficiente como para que su pendiente sea ne-

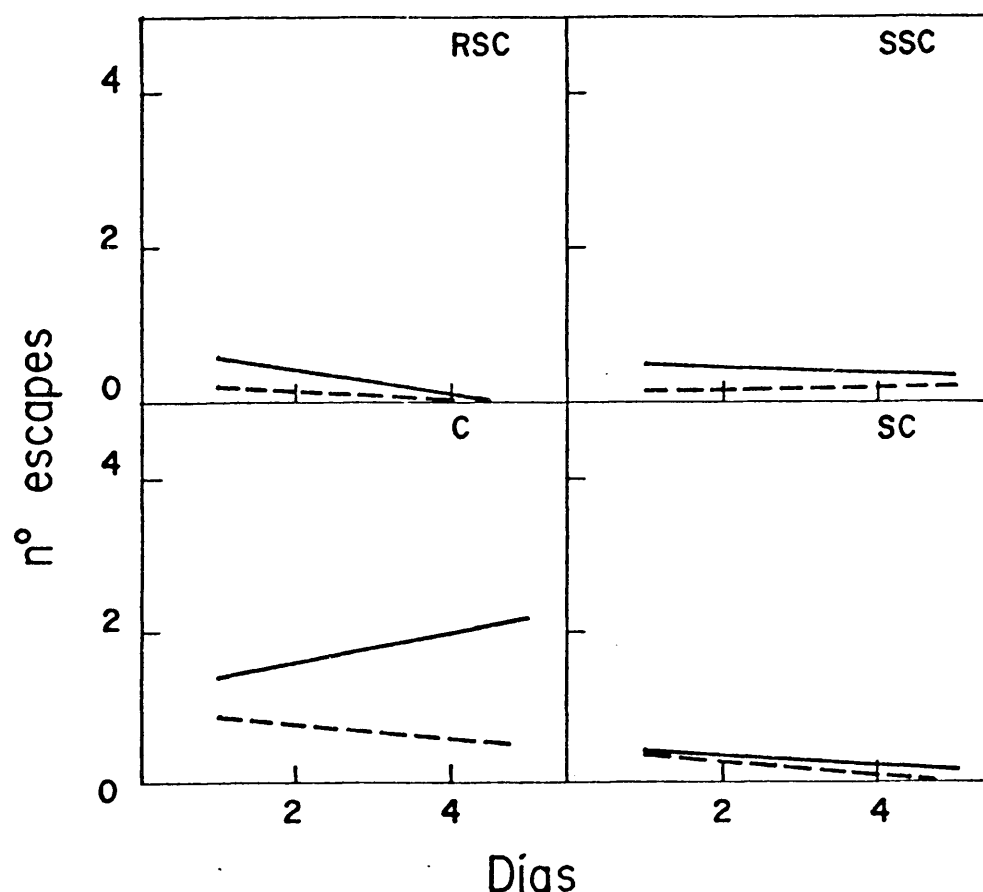


Figura 35.- Fase de retención del condicionamiento de evitación activa.

El comportamiento de los animales en la caja de Mowrer-Miller, a los 50 días de finalizada la fase de adquisición, se estudió como se describe en el apartado II. 4.9. En la figura se representan las rectas de regresión del número de "escapes" sobre los días de duración de la prueba, en trazo continuo para los machos y discontinuo para las hembras. El número medio de escapes en cada grupo experimental, el error estándar, las ecuaciones de las rectas y la significación estadística se muestran en la Tabla XXX. Otros símbolos como en la Tabla I.



TABLA XXX

Número de "escapes" de los distintos grupos experimentales durante la fase de retención del condicionamiento de evitación activa

Grupo	Días					Recta de regresión
	1	2	3	4	5	
C	2 + 0	1 + 0	2 + 1	2 + 1	2 + 1	y = 1,18 + 0,20x
SC	0 + 0	1 + 0	0 + 0	0 + 0	0 + 0	y = 0,56 - 0,07x
SSC	1 + 0	1 + 0	0 + 0	0 + 0	1 + 0	y = 0,54 - 0,05x
RSC	1 + 0	0 + 0	0 + 0	0 + 0	0 + 0	y = 0,77 - 0,17x
C	1 + 1	1 + 1	1 + 0	1 + 0	0 + 0	y = 0,99 - 0,09x
SC	1 + 0	0 + 0	0 + 0	0 + 0	0 + 0	y = 0,52 - 0,10x
SSC	0 + 0	0 + 0	0 + 0	1 + 0	0 + 0	y = 0,09 + 0,02x
RSC	0 + 0	0 + 0	0 + 0	0 + 0	0 + 0	y = 0,26 - 0,06x

Las cifras representan el número medio de "escapes" (mas menos el error estándar) calculado para cada grupo experimental en la prueba de evitación activa (apartado II.4.9.). Las ecuaciones corresponden a las rectas de regresión que mejor se ajustan a los datos experimentales. Condiciones y símbolos como en la Tabla XXVII.

\*p < 0,05

∇ p < 0,01

▼ p < 0,001

gativa. Por otra parte, en el grupo RSC el número de escapes va disminuyendo lentamente a medida que pasan los días, hasta ser cero en el día quinto.

Los grupos de hembras han dado desarrollos de la prueba a lo largo de los cinco días muy parecidos, no encontrándose diferencias entre RSC y C ni entre SSC y C. Los tres grupos presentan pendientes que no se distinguen estadísticamente de cero, mientras que el grupo SC, con pendiente diferente de cero, se distingue por ello de su control. En el caso del grupo SC se observa en la figura 35 que su trayectoria va disminuyendo día a día hasta alcanzar los valores más bajos en los días cuatro y cinco. Pero hay que hacer notar que los valores medios de todos los grupos son muy bajos (en torno al cero) y que pequeñas variaciones pueden no determinar unas diferencias estrictas entre grupos.

Los resultados obtenidos en la respuesta de evitación se ven reflejados en la figura 36 y en la Tabla XXXI.

Hemos encontrado diferencias sexuales en los grupos RSC (los machos presentan una pendiente diferente de cero y las hembras no) y SC ( el grupo de hembras tiene una pendiente diferente de cero estadísticamente y el grupo de machos no).

El grupo RSC de machos (con pendiente significativamente diferente de cero) es el único que presenta diferencias respecto al control (con pendiente no distinguible estadísticamente de cero). Por otra parte, no hay diferencias entre SSC y C ni entre SC y C. Conviene hacer notar aquí que, aunque no se registren diferencias entre estos dos grupos SSC y SC respecto al control, éste siempre ha presentado los valores más bajos en esta respuesta y cabe la posibilidad de que los datos de los grupos SSC y SC se ajusten a dos rectas con la misma pendiente que la del grupo control, pero con distinta ordenada en el origen.

En los grupos de hembras encontramos que no hay diferencias entre los grupos RSC, SSC y C, pero sí aparecen entre SC y C, pues

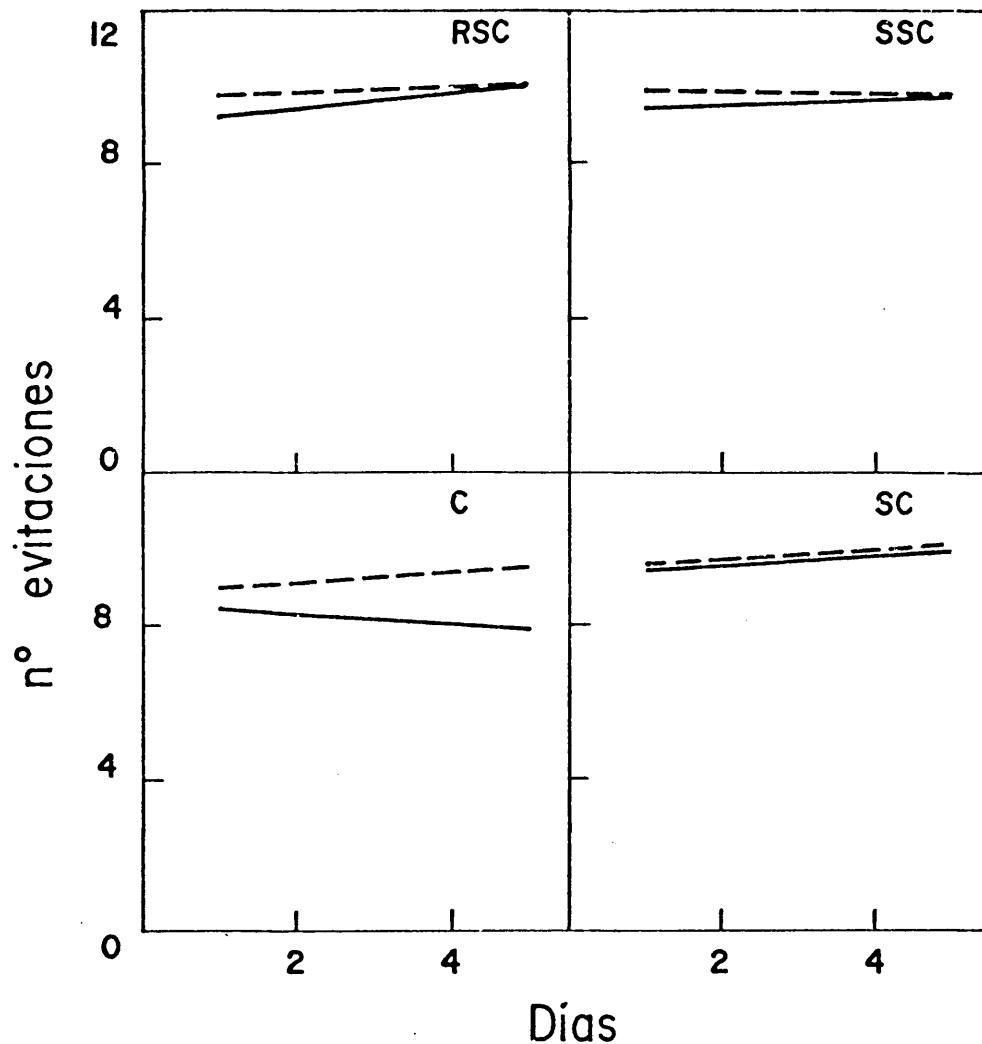


Figura 36.- Fase de retención del condicionamiento de evitación activa.

Se representan las rectas de regresión del número de "evitaciones" sobre los días de duración de la prueba, en trazo continuo para los machos y discontinuo para las hembras. Los valores medios para cada grupo, el error estándar, las ecuaciones de las rectas y la significación estadística se muestran en la Tabla XXXI. Condiciones y símbolos como en la figura 35.

TABLA XXXI

Número de "evitaciones" de los distintos grupos experimentales durante la fase de retención del condicionamiento de evitación activa

Grupo	1	2	3	4	5	Recta de regresión
♂	C	8 ± 1	9 ± 0	8 ± 1	8 ± 1	y = 8,55 - 0,13x
	SC	10 ± 0	10 ± 0	10 ± 0	10 ± 0	y = 9,44 + 0,07x
	SSC	10 ± 0	10 ± 0	10 ± 0	10 ± 0	y = 9,46 + 0,05x
	RSC	9 ± 0	10 ± 0	10 ± 0	10 ± 0	y = 8,99 + 0,23x
♀	C	9 ± 1	9 ± 1	9 ± 0	10 ± 0	y = 9,01 + 0,09x
	SC	10 ± 0	10 ± 0	10 ± 0	10 ± 0	y = 9,48 + 0,10x
	SSC	10 ± 0	10 ± 0	10 ± 0	10 ± 0	y = 9,91 - 0,02x
	RSC	10 ± 0	10 ± 0	10 ± 0	10 ± 0	y = 9,74 + 0,06x

Las cifras representan el número medio de "evitaciones" (mas menos el error estándar) calculado para cada grupo experimental en la prueba de evitación activa (apartado II.4.9.). Las ecuaciones corresponden a las rectas de regresión que mejor se ajustan a los datos experimentales. Condiciones y símbolos como en la Tabla XXVII.

\*p < 0,05

▽ p < 0,01

▼ p < 0,001

el primero tiene una pendiente significativamente distinta de cero y en el segundo no se diferencia de cero, pero pensamos que dado que los valores son muy estables y altos una pequeña diferencia no puede determinar una pendiente diferente y a la vista de los resultados es posible que no sea definitiva de una diferencia inequívoca.

Podemos resumir que las respuestas de evitación en esta fase alcanzan ya una cota máxima en los días uno-dos de prueba, no encontrándose diferencias notorias entre los grupos de hembras, mientras que los tres grupos experimentales de machos (RSC, SSC y SC) alcanzan unos niveles de respuestas de evitación mayores que los presentados por el grupo control.

Por último, los resultados obtenidos en defecación se pueden ver reflejados en la figura 37 y en la Tabla XXXII.

No aparecen diferencias estadísticamente significativas entre machos y hembras.

Respecto al tratamiento, todos los grupos de machos (RSC, SSC y SC) difieren del control. Los tres grupos experimentales presentan aproximadamente el mismo desarrollo a lo largo de los cinco días, comenzando con valores altos y descendiendo día a día hasta alcanzar valores en torno al 0,5 - 1 defecación media por grupo, mientras que el grupo control presenta un perfil distinto siendo prácticamente estable el número de defecaciones producidas desde el primero al quinto día de la prueba y teniendo un valor medio aproximado de 3,5.

En los grupos de hembras podemos observar que los valores registrados siempre son menores, incluso desde el día primero, que los de los machos, aunque nunca hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas. El grupo RSC ( con pendiente distinguible de cero) difiere del control ( con pendiente no diferente de cero) y el grupo SC también es diferente del control por la misma razón.

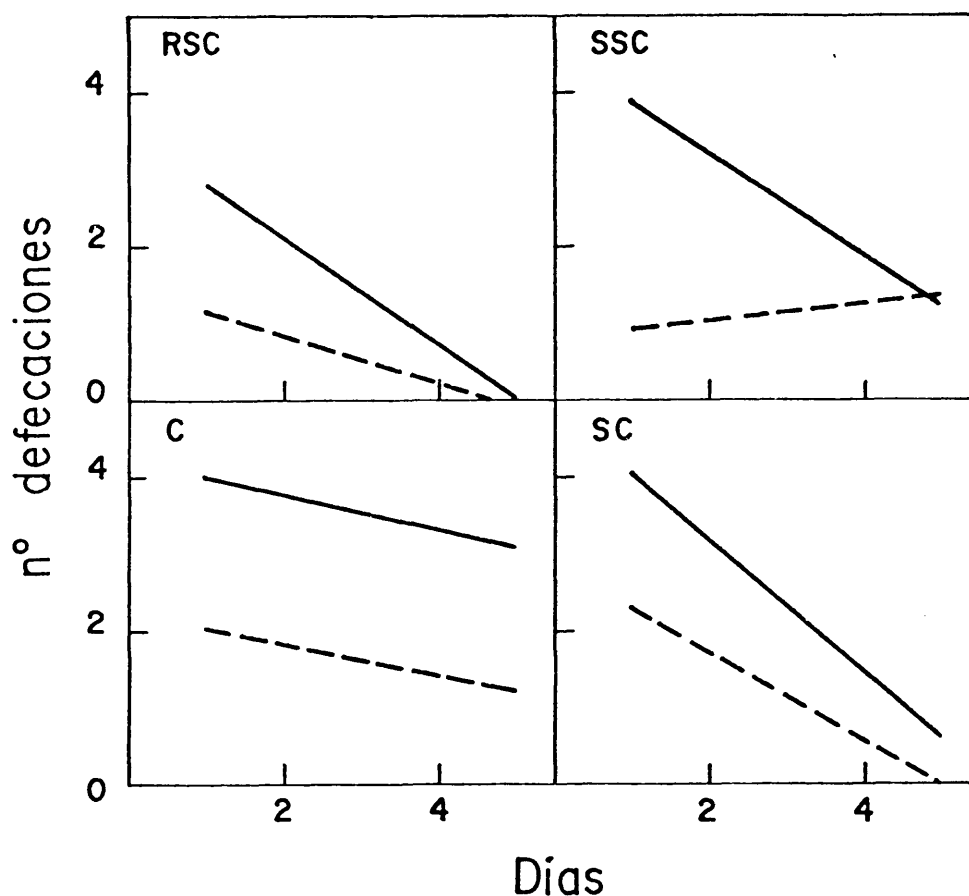


Figura 37.- Fase de retención del condicionamiento de evitación activa.

Se representan las rectas de regresión del número de defecaciones sobre los días de duración de la prueba, en trazo continuo para los machos y discontinuo para las hembras. Los valores medios para cada grupo, el error estándar, las ecuaciones de las rectas y la significación estadística se muestran en la Tabla XXXII. Condiciones y símbolos como en la figura 35.

TABLA XXXII

Número de defecaciones de los distintos grupos experimentales durante la fase de retención del condicionamiento de evitación activa

Grupo	Días					Recta de regresión	
	1	2	3	4	5		
♂	C	4 + 1	4 + 1	3 + 1	4 + 1	3 + 1	y = 4,17 - 0,22x
	SC	5 + 1	2 + 1	2 + 1	2 + 1	1 + 1	y = 4,92 - 0,86x
	SSC	4 + 1	2 + 1	4 + 1	2 + 1	1 + 1	y = 4,55 - 0,67x
	RSC	3 + 1	2 + 1	1 + 1	1 + 1	1 + 1	y = 3,55 - 0,71x
♀	C	2 + 1	2 + 1	1 + 0	1 + 1	2 + 1	y = 2,23 - 0,21x
	SC	2 + 1	3 + 1	0 + 0	0 + 0	1 + 0	y = 2,85 - 0,58x
	SSC	2 + 1	0 + 0	1 + 1	1 + 1	2 + 1	y = 0,86 + 0,08x
	RSC	1 + 0	1 + 1	0 + 0	0 + 0	0 + 0	y = 1,56 - 0,34x

Las cifras corresponden al número medio de defecaciones (mas menos el error estándar) calculado para cada grupo experimental en la prueba de evitación activa (apartado II.4.9.). Las ecuaciones corresponden a las rectas de regresión que mejor se ajustan a los datos experimentales. Condiciones y símbolos como en la Tabla XXVII.

\*p < 0,05

▽ p < 0,01

▼ p < 0,001

Pero conviene tener en cuenta que los valores presentados en la tasa de defecación por los cuatro grupos son muy semejantes entre sí y pensamos que pequeñas variaciones, en uno o en dos días, no pueden ser suficientes para deducir que existen diferencias relevantes entre los grupos de hembras en esta fase del aprendizaje.

Podemos decir, haciendo un pequeño resumen que, en general, todos los grupos de machos presentan diferencias respecto al control en escapes, evitaciones y en defecaciones, siempre con un menor número de escapes, un mayor número de evitaciones y una menor tasa de defecación en los grupos experimentales respecto al control. Todos los grupos de hembras presentan en el número de escapes unos valores medios muy bajos y muy semejantes entre sí, de este modo pensamos que pequeñas variaciones pueden no ser suficientes para deducir que existen sólidas diferencias entre grupos.

En la respuesta de evitación de las hembras sólo hay diferencias entre SC y C, aunque nuevamente al ser respuestas muy estables, pequeñas variaciones pueden determinar diferencias a las que quizás no debemos atribuir gran importancia.

Finalmente, en defecación hay diferencias entre los grupos de hembras RSC y SC respecto al control, pero los valores presentados por todos los grupos son tan bajos y estables (siempre muy próximos a cero) que quizás no deba atribuirseles una significación especial.

Nuestros resultados parecen indicar que los grupos de animales que han recibido tratamiento adverso (físico o social) durante la etapa neonatal presentan, en la edad adulta, una mejor capacidad para adquirir un condicionamiento de evitación en una caja de Mowrer-Miller.



En la fase de adquisición, todos los grupos experimentales han presentado diferencias respecto al control en las respuestas escape y evitación, tanto en machos como en hembras; de modo que han ido dando un mayor número de respuestas evitación en detrimento del número de escapes, a lo largo del período de tiempo establecido para la fase de adquisición. De acuerdo con estos resultados podemos decir que ha habido una mejora en la adquisición del condicionamiento en los animales tratados neonatalmente.

Nuestros resultados están de acuerdo con los obtenidos por Bingham y Griffiths y por Hymovitch. Estos autores encontraron que las ratas criadas en un medio ambiente enriquecido resultaban superiores a las criadas en un medio ambiente empobrecido, cuando se les sometía a ambos grupos a varios tipos de pruebas de condicionamiento ( 161 ). También Forgays y Forgays en 1952 encontraron, que el hecho de someter a los animales en la época neonatal a una variedad más o menos grande de estímulos, suponía una mejora en la eficacia para resolver determinados problemas en la edad adulta ( 161 ).

A. Oliverio (211) utilizando ratones de diferentes cepas y criados en medios estándar, empobrecidos y enriquecidos, ha encontrado una mejora en el aprendizaje de evitación activa en caja de lanzadera ("shuttle-box"), por parte de los animales sobreestimulados. Sus resultados indican también que el medio ambiente temprano puede ser capaz de modificar las capacidades de aprendizaje del individuo en estado adulto .

Un gran número de estudios realizados en diferentes animales como perros, gatos, ratones y ratas han intentado analizar el desarrollo de diferentes categorías comportamentales que van desde la actividad electrocortical a los reflejos motores, patrones de sueño y relaciones madre-cría. Estos estudios indican, en términos generales, que en los mamíferos la maduración postnatal del cortex y la mielinización de determinadas estructuras es paralela a la

maduración de una número de actividades comportamentales necesarias para la ejecución posterior de una compleja conducta adaptativa (74, 211).

En este sentido, Volkmar y Greenough (citados en la ref. 124) han encontrado que las ratas criadas en un medio enriquecido presentan un mayor número de ramificaciones en las neuronas corticales que las ratas criadas en ambientes normales o en situaciones de aislamiento de sus compañeros de camada. Las mayores diferencias se encontraron sobre todo a nivel de las espinas dendríticas. Así, se vio una gran reducción en el número de las espinas dendríticas a nivel del núcleo geniculado lateral, en los mamíferos que sufrieron una privación de luz. Globus y col. encontraron efectos parecidos en peces (citado en la ref. 124).

De este modo y desde una perspectiva general, cabría pensar, de acuerdo con dichos autores, que los animales sometidos a diferentes manipulaciones en la infancia presenten un mayor número de ramificaciones dendríticas en las neuronas corticales, y puesto que son las áreas de asociación cortical unas de las zonas más directamente implicadas en los procesos de condicionamiento, esto podría traducirse en una mayor capacidad para adquirir el aprendizaje en los animales manipulados en la infancia.

Dicha interpretación requeriría para su confirmación mayor evidencia histológica de los efectos sobre las espinas dendríticas en las áreas de asociación cortical de los tratamientos neonatales.

Nuestros resultados parecen indicar que existe una estrecha relación entre la respuesta emotiva de nuestros animales, mediada por el eje H-A-CA, y la velocidad de aprendizaje en una prueba de evitación activa que conlleva una alta intensidad de estrés. En este sentido, los grupos tratados neonatalmente han presentado una respuesta más adaptativa ante una situación adversa (choque eléc-

trico), igual que han hecho en otras pruebas de significación emocional ya comentadas (C.A., agresión inducida por choque eléctrico etc...). Estos datos deberían por tanto ser interpretados como un efecto de los tratamientos neonatales sobre la función del eje H-A-CA en el sentido de mediar respuestas más adaptativas al estrés. Este efecto debe de haber sido especialmente importante para producir una mejora en el aprendizaje de los grupos tratados por cuanto habrá debilitado la respuesta emocional condicionada (CER) que puede conducir al "congelamiento" del animal (bloqueo motor) en la fase de adquisición del condicionamiento (290). Por otra parte, dicha interpretación coincide con la de otros autores (133, 164) que han realizado pruebas de condicionamiento aversivo con animales tratados experimentalmente para alterar su respuesta al estrés.

Además, y como hemos venido repitiendo en los apartados anteriores, el hecho de que exista un período crítico neonatal para la diferenciación sexual del cerebro, que solape en el tiempo con el período de maduración del sistema adrenal, podría determinar diferencias sexuales en la acción del tratamiento neonatal, de forma que fueran los machos los individuos más afectados y como se ha podido apreciar en la exposición anterior de resultados y queda reflejado en las figuras 32-37 son los machos de los grupos tratados neonatalmente los que presentan más diferencias respecto al control y además dichas diferencias se mantienen, de forma general, en la fase de retención.

Por otra parte, encontramos diferencias sexuales en casi todos los grupos con respecto a las diferentes respuestas contabilizadas. Estos resultados coinciden con los de Levine y Wetzel (164) y Hernández Tristán (133) entre otros.

Finalmente, por lo que respecta a los resultados de defecación obtenidos en esta prueba, tenemos que decir que sólo aparecen di-

ferencias sexuales en la fase de adquisición , excepto entre los grupos RSC, de forma que en la fase de retención no se observan diferencias sexuales. Este hecho también puede interpretarse como una diferente respuesta emotiva ante una situación de estrés, de forma que sean los machos los individuos que presenten un mayor número de defecaciones. Además, es muy significativo que sea el grupo RSC, sometido a una situación más adversa en una etapa temprana, el que no presenta diferencias entre machos y hembras, mostrando ambos sexos unos niveles de defecación bajos. De este modo podemos decir que parecen ser los machos los más afectados también en esta prueba por el tratamiento, dando respuestas de defecación muy semejantes a las de las hembras y anulando así las diferencias sexuales.

En la fase de retención ya no encontramos diferencias sexuales en defecación entre ningún grupo, esto puede explicarse por el hecho de que las pruebas realizadas en este período, una vez adquirido el condicionamiento, suponían casi un 100 % de aciertos desde el primer día, de manera que el estrés inducido en los animales era mucho menor que en la fase de adquisición. De esta manera, los niveles de defecación obtenidos a lo largo de los cinco días de la fase de retención han sido mucho menores en todos los grupos a los obtenidos en la primera etapa (ver figuras 34 y 37 ).

### III. 9.- PESOS DE LAS GLANDULAS ADRENALES.

Nuestros resultados se ven expresados en la Tabla XXXIII.

#### III. 9.1.- Resultados obtenidos en el peso fresco de las glándulas adrenales/ peso corporal.

Cuando hemos analizado los resultados del peso fresco de las glándulas adrenales hemos encontrado diferencias sexuales en todos los grupos, siendo siempre las hembras las que han presentado las adrenales más pesadas.

También hemos encontrado algunas diferencias debidas al tratamiento neonatal. En concreto, entre los grupos de machos sólo el RSC se diferencia estadísticamente del control ( $p < 0,001$ ), presentando un valor promedio del peso fresco de las glándulas mayor que el grupo control. Los grupos SSC y SC también presentan unas glándulas adrenales con un mayor peso que las de los controles, pero en todos estos casos no existen diferencias estadísticamente significativas. En cuanto a las hembras, sólo el grupo SC ( $p < 0,05$ ) se diferencia del control. Los grupos RSC y SSC de hembras han mostrado valores más altos que el grupo control, pero no han llegado a ser significativos.

#### III. 9.2.- Resultados obtenidos en el peso seco de las glándulas adrenales/ peso corporal.

En los valores del peso seco de las glándulas se observan diferencias sexuales entre todos los grupos, de forma que son las hembras las que tienen un valor medio del peso seco de las glándulas adrenales mayor que el de los machos.

No hemos encontrado diferencias debidas al tratamiento neonatal. De forma que las diferencias que aparecían en los valores del peso fresco ahora desaparecen, aunque se mantiene una tenden-

cia que merece mencionarse, en el sentido de un mayor peso seco de las glándulas en los grupos experimentales, pero que no llega a ser significativa en ningún caso.

Tabla XXXIII

Peso medio de las glándulas adrenales  
en los distintos grupos experimentales

		<u>Peso glándulas adrenales</u> <u>Peso corporal</u> (mg)	
Grupo		Fresco	Seco
♂	C	4,2 ± 0,2	1,3 ± 0,1
	SC	4,6 ± 0,2	1,3 ± 0,1
	SSC	4,5 ± 0,1	1,4 ± 0,1
	RSC	***5,1 ± 0,1	1,6 ± 0,1
♀	C	9,4 ± 0,2	2,9 ± 0,1
	SC	*10,8 ± 0,4	3,2 ± 0,1
	SSC	9,4 ± 0,3	3,2 ± 0,1
	RSC	9,7 ± 0,4	3,2 ± 0,1

Las glándulas se extrajeron y desecaron como se describe en el apartado II. 4.10 . Los asteriscos indican diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo control. El resto de los símbolos como en la Tabla I.

\* p < 0,05 \*\*\* p < 0,001

Nuestros resultados indican la existencia de diferencias sexuales en todos los grupos, tanto en peso fresco como en peso seco. Teniendo en cuenta que nosotros hemos realizado estas medidas en la edad adulta de los animales, nuestros resultados coinciden con los obtenidos por otros autores que no encuentran diferencias sexuales en la etapa prepuberal pero sí en la postpuberal, debido a que las hembras incrementan enormemente el peso de las glándulas adrenales desde la pubertad, mientras que los machos las

mantienen aproximadamente estables (56,176), quizás debido a la intervención de los esteroides adrenales en los ciclos estrales de las hembras. Quizás también esta variable se vea afectada por el mayor aumento en peso corporal de los machos en la etapa post-puberal.

Diferentes autores han encontrado un incremento significativo en el peso de las glándulas adrenales como consecuencia de la aplicación de un determinado tratamiento en la época neonatal. Los tratamientos empleados son tan variados como la separación parcial de la madre (59), modificaciones físicas del medio ambiente (101) o la aplicación de un estrés crónico intermitente por aplicación de frío (45). Nosotros no hemos encontrado diferencias en el peso seco de las glándulas entre los diferentes grupos, pero como comentamos anteriormente puede observarse una tendencia a presentar adrenales más pesadas los grupos tratados neonatalmente, pero que en nuestro caso no llegan a ser significativas.

Esta tendencia a presentar adrenales más pesadas podría interpretarse como un efecto de los tratamientos neonatales sobre la funcionalidad del eje H-A-CA, ya comentada anteriormente, que se traduciría en una respuesta más adaptada a los cambios ambientales inductores de estrés por parte de esos animales (162).

### III. 10.- PESO CORPORAL.

#### III. 10.1.- Etapa neonatal.

Nuestros resultados se reflejan en la figura 38 y en la Tabla XXXIV.

Después de aplicados los análisis de varianza jerárquicos simples desde el nacimiento (día 1) hasta el destete (día 23), hemos podido comprobar que en los días 1 y 2 no hay diferencias significativas entre los diferentes grupos, (lo cual viene a garantizar que la distribución de los animales en las diferentes ca madas ha sido homogénea respecto al peso y no ha interferido, por lo tanto, en los efectos de los tratamientos neonatales sobre esa variable).

Pero muy pronto, en el día 3, aparecen diferencias del grupo RSC respecto al control ( $p < 0,001$ ) y del grupo SC respecto al control ( $p < 0,05$ ). La diferencia establecida entre los grupos RSC y C se va a mantener hasta el día del destete (día 23), siendo siempre esta diferencia a favor de un mayor peso corporal en el grupo RSC, con la sola excepción del día 14 en el que no encontramos ninguna diferencia entre ningún grupo respecto al control, dato que en el contexto de los 23 días del período de lactación no parece demasiado relevante.

En los días 10, 11 y 13 obtuvimos un nivel de significación del 1 % ( $p < 0,01$ ) y en el resto (excepto el día 14) fue de 1 %. ( $p < 0,001$ ).

El grupo SSC sólo presentó diferencias significativas respec to al control en el día 23 ( $p < 0,05$ ) pero mostró a lo largo de todos los días, desde el tercero, una tendencia clara en el sentido de presentar valores más altos que los controles.



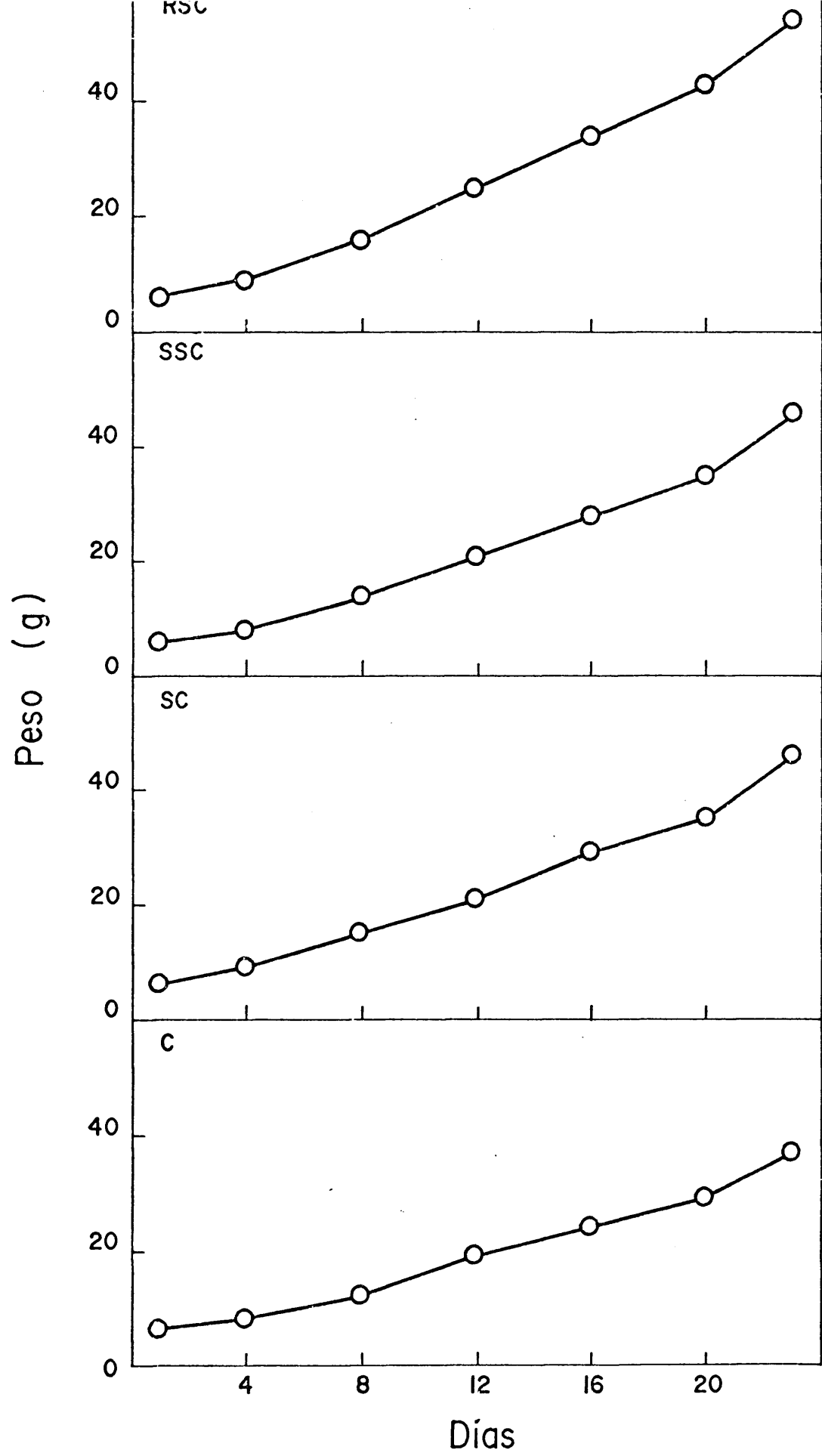


Figura 38.- Aumento de peso de los distintos grupos experimentales durante el período de lactación.

Los animales se pesaron como se indica en el apartado II. 4.2. y en la figura se representa el peso medio por grupo experimental (machos y hembras) frente a los días de vida. El error estándar de las medidas no es representable en la escala empleada y se muestra en la Tabla XXXIV. Símbolos como en la Tabla I.

TABLA XXXIV

Aumento de peso de los distintos grupos experimentales durante el período de lactación

Día	Grupo			
	C	SC	SSC	RSC
1	6 $\pm$ 0	6 $\pm$ 0	6 $\pm$ 0	6 $\pm$ 0
2	6 $\pm$ 0	7 $\pm$ 0	6 $\pm$ 0	7 $\pm$ 0
3	7 $\pm$ 0	8 $\pm$ 0	7 $\pm$ 0	8 $\pm$ 0
4	8 $\pm$ 0	9 $\pm$ 0	8 $\pm$ 0	9 $\pm$ 0
5	9 $\pm$ 0	10 $\pm$ 1	10 $\pm$ 0	11 $\pm$ 0
6	10 $\pm$ 0	11 $\pm$ 1	11 $\pm$ 1	12 $\pm$ 1
7	11 $\pm$ 1	13 $\pm$ 1	12 $\pm$ 1	14 $\pm$ 1
8	12 $\pm$ 1	15 $\pm$ 1	14 $\pm$ 1	16 $\pm$ 1
9	13 $\pm$ 1	16 $\pm$ 1	15 $\pm$ 1	18 $\pm$ 1
10	15 $\pm$ 1	18 $\pm$ 1	17 $\pm$ 1	21 $\pm$ 1
11	17 $\pm$ 1	20 $\pm$ 1	19 $\pm$ 1	23 $\pm$ 1
12	19 $\pm$ 1	21 $\pm$ 1	21 $\pm$ 1	25 $\pm$ 1
13	21 $\pm$ 1	22 $\pm$ 1	22 $\pm$ 2	27 $\pm$ 1
14	22 $\pm$ 1	24 $\pm$ 1	24 $\pm$ 2	29 $\pm$ 1
15	22 $\pm$ 1	27 $\pm$ 2	26 $\pm$ 2	32 $\pm$ 1
16	24 $\pm$ 1	29 $\pm$ 2	28 $\pm$ 2	34 $\pm$ 1
17	25 $\pm$ 1	31 $\pm$ 2	29 $\pm$ 2	36 $\pm$ 1
18	27 $\pm$ 2	31 $\pm$ 2	32 $\pm$ 2	38 $\pm$ 1
19	28 $\pm$ 2	33 $\pm$ 2	33 $\pm$ 2	40 $\pm$ 1
20	29 $\pm$ 2	35 $\pm$ 2	35 $\pm$ 3	43 $\pm$ 2
21	31 $\pm$ 2	37 $\pm$ 3	38 $\pm$ 3	46 $\pm$ 2
22	32 $\pm$ 2	42 $\pm$ 2	41 $\pm$ 3	51 $\pm$ 2
23	36 $\pm$ 2	46 $\pm$ 3	46 $\pm$ 3	54 $\pm$ 2

Las cifras corresponden al peso medio en gramos (mas menos el error estándar) calculado en cada grupo experimental y durante todo el período de lactación, como se describe en el apartado II.4.2. La significación estadística de las diferencias encontradas se expone y discute en el apartado III.10. Símbolos como en la Tabla I.

Por lo que se refiere al grupo SC, empezó a presentar diferencias respecto al control en el día 3 ( $p < 0,05$ ) y del día 7 ( $p < 0,05$ ) al día 9 ( $p < 0,05$ ) para no volver a diferir del control hasta el día 23 ( $p < 0,05$ ).

Nuestros resultados coinciden con los obtenidos por otros autores como Morton y col. (199) y Ardila y col. (18), que explican el aumento de peso en los animales tratados como una consecuencía de los posibles cambios endocrinos que la manipulación neonatal puede producir sobre el eje H-A-CA. En nuestro trabajo era previsible que esos cambios actuaran con mayor nitidez en el grupo RSC, como consecuencia de recibir dicho grupo el tratamiento experimental más intenso.

El hecho de que el grupo SC, durante la etapa neonatal, presente sólo algunas diferencias en peso, respecto al control, pero de forma poco estable, al contrario de lo que sucede en el grupo RSC, confirma los resultados obtenidos en trabajos anteriores, donde ya se apuntaba una posición intermedia de este grupo entre el control y el grupo de tratamiento reforzado RSC (112). Por otra parte, cabría esperar que aumentando el tiempo de separación diaria de la madre, obtendríamos un grupo experimental que se pareciera más al RSC que al C, pero de hecho no ha sido así. En el caso de los grupos SSC y SC parece que la separación parcial de la madre durante períodos de cuatro y dos horas respectivamente no ha debido de ser suficiente para disparar los macanismos hormonales antes citados, al menos en la misma proporción que el tratamiento reforzado.

Otra posible interpretación al hecho de que el grupo SSC no presente diferencias sostenidas, a lo largo del tiempo de lactación, con respecto al control es que la separación de cuatro horas diarias sea suficiente para desencadenar determinados mecanismos endocrinos en las crías, pero que a su vez sea un tiempo

demasiado dilatado para la necesaria estimulación de la madre y los niveles de leche no sean los óptimos, de forma que las crías pudieran mamar más y aumentar así su peso corporal. Esto sucedería durante toda la lactación, hasta que las crías alcanzaran un nivel de desarrollo corporal como para alternar su alimentación de leche con la de la comida sólida (pienso compuesto), hecho que sucedería aproximadamente alrededor de las fechas del destete, como efectivamente se produce.

Teniendo en cuenta esta posibilidad cabría diseñar otro experimento, de forma que la madre no se viera afectada por una ausencia tan prolongada de sus crías.

### III. 10.2.- Etapas postdestete.

Los resultados obtenidos se han reflejado en la figura 39 y en la Tabla XXXV.

No hemos encontrado diferencias sexuales a la edad de 30 días, excepto entre los grupos SSC ( $p < 0,05$ ), tampoco encontramos diferencias a los 40 días, excepto para RSC ( $p < 0,05$ ), siempre a favor de mayores pesos para los machos. A los 60 días aparecen diferencias entre machos y hembras en todos los grupos y siempre con la misma significación estadística ( $p < 0,001$ ). Las diferencias desaparecen a los 80 días, aunque se mantiene la tendencia a favor de un mayor peso en los machos. Aproximadamente se consolidan las diferencias sobre los 100 días y ya se mantienen estables hasta los 120 días de edad.

En cuanto al efecto del tratamiento sobre el peso corporal, hemos encontrado que a los 30 días ya hay diferencias de todos los grupos experimentales respecto a los controles, es decir, en los grupos de machos RSC ( $p < 0,001$ ), SSC ( $p < 0,001$ ), SC ( $p < 0,001$ ) y en los de hembras, RSC ( $p < 0,001$ ), SSC ( $p < 0,001$ ) y SC ( $p < 0,001$ ), siendo las diferencias a favor de un mayor peso en los animales

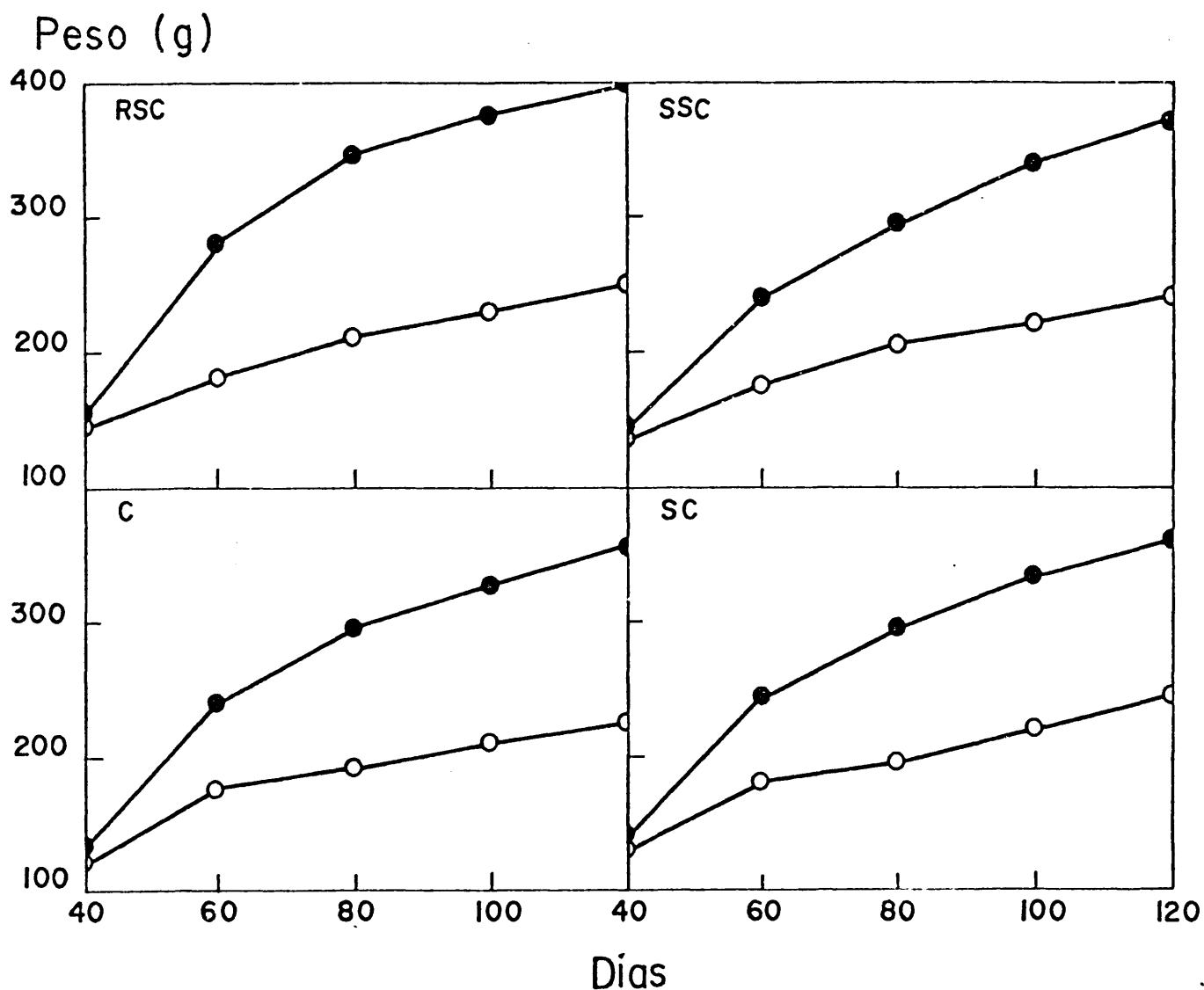


Figura 39.- Aumento de peso de los distintos grupos experimentales en la fase posterior al destete.

Se representa el peso medio por grupo experimental (obtenido como se describe en el apartado II. 4.2.) frente a los días de edad. Los círculos negros corresponden a los individuos machos y los blancos a las hembras. El error estándar de las medidas y la significación estadística se muestran en la Tabla XXXV. Símbolos como en la Tabla I.

TABLA XXXV

Aumento de peso de los distintos grupos experimentales  
en la fase posterior al destete

Grupo	Día				
	30	40	60	80	100
C	73 ± 1	130 ± 1	240 ± 2	297 ± 3	326 ± 5
SC	105 ± 2	139 ± 3	244 ± 5	297 ± 5	336 ± 4
SSC	106 ± 2	142 ± 2	241 ± 3	293 ± 3	340 ± 2
RSC	116 ± 2	154 ± 2	280 ± 4	346 ± 5	375 ± 5
C	74 ± 1	121 ± 1	175 ± 2	190 ± 2	209 ± 3
SC	102 ± 1	131 ± 2	178 ± 3	195 ± 2	221 ± 3
SSC	99 ± 2	135 ± 3	175 ± 3	204 ± 2	222 ± 3
RSC	110 ± 1	144 ± 3	181 ± 2	209 ± 5	228 ± 3

Las cifras corresponden al peso medio individual en gramos  
(mas menos el error estándar) calculado en cada grupo experimental  
en el período posterior al destete, como se describe en el apar-  
tado II.4.2. Símbolos como en la Tabla I.

\* p < 0,05      ∇ p < 0,01      ▼ p < 0,001

tratados neonatalmente. A los 40 días se mantienen las diferencias, tanto para los grupos de machos como para los de hembras, RSC ( $p < 0,001$ ), SSC ( $p < 0,01$ ) y SC ( $p < 0,05$ ).

A los 60 días ya sólo aparecen diferencias entre el grupo RSC machos y el control ( $p < 0,001$ ), y se mantendrán estables hasta los 120 días.

A la edad de 60 días desaparecen las diferencias para las hembras, y vuelven a establecerse a los 80 días entre RSC y C ( $p < 0,001$ ) y entre SSC y C ( $p < 0,01$ ). Se mantienen en la misma significación estadística a los 100 y 120 días para RSC, mientras que a los 100 días para el grupo SSC es ( $p < 0,05$ ) y aparecen diferencias entre SC y C ( $p < 0,05$ ). A los 120 días SSC se diferencia del control ( $p < 0,001$ ) así como también lo hace SC ( $p < 0,001$ ). En todos los casos que aparecen diferencias entre grupos experimentales y control son a favor de mayores pesos en los grupos de tratamiento neonatal.

En resumen, el grupo RSC-machos ha diferido del control desde los 30 días a los 120 días, es decir, a lo largo de todo el período de desarrollo estudiado.

Los grupos SSC-machos y SC-machos sólo presentan diferencias respecto al control a los 30 y 40 días de edad.

Los grupos RSC-hembras y SSC-hembras tienen diferencias respecto al control en todas las edades estudiadas excepto a los 60 días.

En el caso de las hembras SC sólo se alejaron del control a los 30 y 40 días y a los 100 y 120, es decir, en las dos medidas después del destete y en dos de las últimas medidas registradas.

Las diferencias obtenidas en los grupos tratados, tanto machos como hembras, con respecto al control siempre fueron a favor de un mayor peso corporal en los individuos sometidos a tratamiento en la época neonatal.



Además el no encontrar diferencias estadísticamente significativas no excluye el hecho de que en general siempre se mantuviera una tendencia en el sentido anteriormente expuesto.

Nuestros resultados indican que todos los grupos de animales tratados neonatalmente (tanto machos como hembras) presentan diferencias en peso corporal respecto a sus controles y el haber encontrado las mayores diferencias entre el grupo más severamente tratado en la primera etapa de su vida y el control, parece ser un resultado que apoya la hipótesis de que los estímulos neonatales (físicos y sociales) coinciden con un momento de maduración del sistema endocrino y que dicha coincidencia condiciona en el futuro determinadas respuestas físicas y comportamentales del individuo.

Nuestros resultados coinciden con los obtenidos por otros autores trabajando con ratones (62,256). Dichos autores han encontrado que los ratones sometidos a manipulación adversa en la etapa neonatal alcanzan un mayor desarrollo físico y de una forma más rápida que los controles. Ardila y col. (18) trabajando con ratas también encuentran un incremento en el peso de los animales sometidos a condiciones adversas en la infancia. Todo ello puede tener importantes implicaciones desde el punto de vista del comportamiento adaptativo en roedores, basado en gran medida en una gran plasticidad de sus estructuras nerviosas durante momentos críticos del desarrollo ( 48,74,78,96,122,162,175,208,227,253,270,297).

#### IV. CONCLUSIONS

- 1.- Los niveles de corticosterona basales y en respuesta al estrés son superiores en las hembras de todos los grupos experimentales.
- 2.- El tratamiento neonatal RSC ha sido el más contundente en sus efectos endocrinos, afectando tanto a machos como a hembras. Los tratamientos neonatales SSC y SC sólo han sido eficaces y de forma parcial en los grupos de machos.
- 3.- En la prueba de actímetro las hembras han desplegado en general una mayor actividad que los machos, no apareciendo en la mayoría de los casos diferencias significativas ni entre sexos ni entre los diferentes grupos experimentales.
- 4.- En la prueba de campo abierto los animales tratados neonatalmente presentan valores más altos en las variables exploratorias y menores en aquellos parámetros que configuran un índice indirecto del estado emotivo del individuo. En todos los casos los machos han sido los más afectados por el tratamiento.
- 5.- Los tratamientos neonatales han producido efectos radicales en la disminución de las pautas agresivas tipo A y tipo B en las pruebas de agresión intraespecífica, resultando los machos los individuos más afectados y especialmente los del grupo RSC.
- 6.- La manipulación neonatal no ha inducido en ningún momento cambios significativos en la conducta de agresión interespecífica de los animales tratados.

- 7.- Los tratamientos neonatales han tenido un efecto perjudicial en la expresión de la conducta sexual, sobre todo en las pautas específicamente copulatorias (tipo B) tanto en los machos como en las hembras experimentales. El grupo RSC ha sido nuevamente el más afectado por el tratamiento.
- 8.- Todos los grupos experimentales han presentado una mayor velocidad de aprendizaje que los controles en la fase de ad-quisición en la prueba de laberinto, presentando también menores tiempos de emergencia. En la fase de retención en laberinto no aparecen diferencias significativas entre los diferentes grupos experimentales y los controles, excepto en los tiempos de emergencia y ejecución que son significativamente menores en los individuos tratados.
- 9.- Los individuos tratados neonatalmente, especialmente los machos, presentan una adquisición más rápida del aprendizaje en la prueba de Mowrer-Miller. En la fase de retención no aparecen diferencias significativas entre los diferentes grupos experimentales.
- 10.- Las hembras de todos los grupos estudiados presentan un mayor peso fresco y seco de las glándulas adrenales que los animales machos. Aparece una tendencia que no llega a ser estadísticamente significativa, en el sentido de presentar un mayor peso de las adrenales los individuos tratados.
- 11.- Los animales tratados, y especialmente el grupo RSC, han presentado un mayor peso corporal que los controles durante el período de lactación. A partir del destete las diferencias en peso corporal se han mantenido en los machos RSC respecto de los controles, observándose oscilaciones inestables en los demás grupos tratados.

## V. BIBLIOGRAFIA

- (1) Adamec, R.E., Stark-Adamec, C. y Livingston, K.E. (1980), The development of predatory aggression and defense in the domestic cat (Felis catus) I. Effects of early experience on adult patterns of aggression and defense, Behav. Neural Biol., 30, 389-409.
- (2) Adams, D.B. (1979), Brain mechanisms for offense, defense and submission, Behav. Brain Sci., 2, 201-241.
- (3) Ader, R., Beels, C.C. y Tatum, R. (1960), Social factors affecting differential housing emotionality and resistance to disease in animals: II. Susceptibility to gastric ulcerations as a function of interruptions in social interaction and the time at which they occur, J. Comp. Physiol. Psychol., 53, 455-458.
- (4) Ader, R. y Friedman, S.B. (1964), Social factors affecting emotionality and resistance to disease in animals: IV. Differential housing, emotionality and walker 256 carcinoma in the rat, Psychol. Rep., 15, 535-541.
- (5) Ader, R. y Grotta, L.J. (1973), Adrenocortical mediation of the effects of early life experiences, Prog. Brain Res., 39, 395-406.
- (6) Ader, R. (1975), Competitive and noncompetitive rearing and shock-elicited aggression in the rat, Anim. Learn. Behav., 3 (4), 337-339.
- (7) Ahlers, I., Šmajda, B. y Ahlersová, E. (1980), Circadian rhythm of plasma and corticosterone in rats: effect of

restricted feeding schedules, *Endocrinol. Experimentalis*, 14, 183-190.

- (8) Ahlers, I., Zahumenska, D., Toropila, M., Šmajda, B. y Ahlersová, E. (1980), The effect of season on circadian rhythm of serum and adrenal corticosterone in rats, *Activ. Nerv. Sup. (Praha)*, 22, (1), 60-61.
- (9) Albert, D.J. y Walsh, M.L. (1982), The inhibitory modulation of agonistic behavior in the rat brain: A review, *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 6, 125-143.
- (10) Albert, D.J., Walsh, M.L., Ryan, J. y Siemens, Y. (1982), Mouse killing in rats: A comparison of spontaneous killers and rats with lesions of the medial hypothalamus or the medial accumbens nucleus, *Physiol. Behav.*, 29, (6), 989-994.
- (11) Amir, S. y Amit, Z. (1979), The pituitary gland mediates acute and chronic pain responsiveness in stressed and non-stressed rats, *Life Sci.*, 24, 439-448.
- (12) Anderson, V.K. and McLean, R.A. (1974), *Statistics: textbooks and monographs. Vol. 5. Design of experiments. A realistic approach*, Marcel Dekker, Inc. New York.
- (13) Archer, J. (1971), Sex differences in emotional behaviour: A reply to Gray and Buffery, *Acta Psychol.*, 35, 415-429.
- (14) Archer, J. (1973), Tests for emotionality in rats and mice: A review, *Anim. Behav.*, 21, 205-235.

- (15) Archer, J. (1975), Rodent sex differences in emotional and related behaviour, *Behav. Biol.*, 14, 451-479.
- (16) Ardila, R. (1973), *Manual de Psicología Fisiológica*, Trillas (México).
- (17) Ardila, R. (1976), *Psicología del Aprendizaje*, Siglo XXI. (México).
- (18) Ardila, R., Rezk, M., Polanco, R. y Pereira, F. (1977), Early handling, electric shock and environmental complexity: Effects on exploratory behaviour, "emotionality", and body weight, *Physiol. Record*, 27, (A), 219-224.
- (19) Armario, A., Castellanos, J.M. y Balasch, J. (1982), Orchiectomy does not modify the adrenocortical response to noise stress in the rat, *IRCS Medical Sci.*, 10, 791.
- (20) Azrin, N.H., Hutchinson, R.R. y Hake, D.F. (1963), Pain-induced fighting in the Squirrel monkey, *J.Exp. Anal. Behav.*, 6, 620.
- (21) Baenninger, R. (1974), Effects of day 1 castration on aggressive behaviour of rats, *Bull. Psychonomic Soc.*, 3 (3a), 189-190.
- (22) Baenninger, L.P. y Baenninger, R. (1970), Spontaneous fighting and mouse-killing by rats, *Psychonomic Sci.*, 19, 161.
- (23) Bandler, R.J. Jr. y Moyer, K.E. (1970), Animals spontaneously attacked by rats, *Commun. Behav. Biol.*, 5, 177-182.



- (24) Barfield, D.J. y Chen, J.J. (1977), Activation of estrous behaviour in ovariectomized rats by intracerebral implants of estradiol benzoate, *Endocrinol.*, 101, (6)
- (25) Barnett, S.A. (1963), *The rat: A study in behaviour*. Chicago: Aldine Publishing Co.
- (26) Baron, S. y Brush, F.R. (1979), Effects of acute and chronic restraint and estrous cycle on pituitary-adrenal function in the rat, *Horm. Behav.*, 12, 218-224.
- (27) Barr, G.A., Gibbons, J.L. y Moyer, K.E. (1975), The relationship between mouse killing and intraespecific fighting in the albino rat, *Behav. Biol.*, 14, 201-208.
- (28) Barr, G.A. (1981), Effects of different housing conditions on intraspecies fighting between male Long-Evans hooded rats, *Physiol. Behav.*, 27, (6), 1041-1044.
- (29) Barrington, E.J.W. (1975), *Introducción a la Endocrinología General y Comparada*, H.Blume (Madrid).
- (30) Bateson, P. y Young, M. (1981), Separation from the mother and the development of play in cats, *Anim. Behav.*, 29, 173-180.
- (31) Beatty, W. W. y Fessler, R.G. (1976), Ontogeny of sex differences in Open-Field behaviour and sensitivity to electric shock in the rat, *Physiol. Behav.*, 16 (4), 413-417.
- (32) Beatty, W.W. y Rush, J.R. (1983), Spatial working memory

in rats: Effects of monoaminergic antagonists, Pharmacol. Biochem. Behav., 18 (1), 7-12.

- (33) Beck, J. (1971), Instrumental conditioned reflexes with sexual reinforcement in rats, Acta Neurobiol. Exp., 31, 251-262.
- (34) Berger, D.F., Starzec, J.J. y Mason, E.B. (1981), The relationship between plasma corticosterone levels and leverpress avoidance vs. escape behavior in rats, Physiol. Psychol., 9 (1), 81-86.
- (35) Birke, L.I.A. y Archer, J. (1975), Open-Field behavior of estrous and diestrous rats. Evidence against an "emotionaliity" interpretation, Anim. Behav., 23, 509-512.
- (36) Blizard, D.A., Lippman, H.R. y Chen, J.J. (1975), Sex differences in the rat: the inductive and activational role of gonadal hormones, Physiol. Behav., 14 (5), 601-608.
- (37) Blomberg, S. (1980), Influence of maternal distress during pregnancy on fetal malformations, Acta Psychiat. Scand., 62, 315-330.
- (38) De Bold, J.F. y Miczek, K.A. (1981), Sexual dimorphism in the hormonal control of aggressive behavior of rats, Pharmacol. Biochem. Behav., 14, suppl. 1, 89-93.
- (39) Broadhurst, P.L. (1960), Applications of biometrical genetics to the inheritance of behaviour, en: Experiments in personality, vol. 1: Psychogenetics and Psychopharmacology, pp. 3-102, H.J. Eysenck (ed.), London.

- (40) Broadhurst, P.L. (1969), Psychogenetics of emotionality in the rat. *Annals New York Acad. of Sci.*, 159, 806-824.
- (41) Brookhart, J.M. y Dey, F.L. (1941), Reduction of sexual behavior in male guinea pigs by hypothalamic lesions, *Amer. J. Physiol.*, 133, 551-554.
- (42) Brostein, P.M., Wolkoff, F.D. y Levine, M.J. (1975), Sex-related differences in rats' open-field activity. *Behav. Biol.*, 13, 133-138.
- (43) Brush, F.R. y Fraley, S.M. (1979), Central mediation of hormonal influences on instrumental avoidance conditioning, *Acta Neurobiol. Exp.*, 39, 453-467.
- (44) Bugbee, W.M. y Eichelman, B.S. (1972), Sensory alterations and aggressive behaviour in the rat. *Physiol. Behav.*, 8, 981-985.
- (45) Burchfield, S.R., Wood, S.C. y Elich, M.S. (1980), Pituitary adrenocortical response to chronic intermittent stress. *Physiol. Behav.*, 24 (2), 297-302.
- (46) Burešová, O y Bureš, J. (1981), Reward improves working memory of rats in the radial maze. *Physiol. Behav.*, 27 (2), 211-215.
- (47) Caggiula, A.R. (1972), Shock-elicited copulation and aggression in male rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 80 (3), 393-397.

- (48) Cain, S. y Routtenberg, A. (1983), Neonatal handling selectively alters the phosphorylation of a 47,000 mol. wt. protein in male rat hippocampus. Brain Res., 267, 192-195.
- (49) Carrillo, A.J., Duke, P.G. y Dunn, J.D. (1980), Episodic corticosterone secretion in the female rat. Horm. Res., 13, 40-47.
- (50) Carter, C.S., Michael, S.J. y Morris, A.H. (1973), Hormonal induction of female sexual behaviour in male and female hamsters. Horm. Behav., 4, 129-141.
- (51) Carter, C.S. y Landauer, M.R. (1975), Neonatal hormone experience and adult lordosis and fighting in the golden hamster. Physiol. Behav., 14 (1), 1-6.
- (52) Casamitjana, I. y Cucurella, N. (1980), Estydi compratiu dels mètodes de detecció (Inductiy i óptic). Tesis de licenciatura. Fac. de Farmacia. Universidad de Barcelona.
- (53) de Castro, J.M. y Marrone, B.L. (1974), Effects of fornix lesions on shock-induced aggression muricide, and motor behaviour in the albino rat. Physiol. Behav., 13, 734-743.
- (54) Chapman, R.H. y Stern, J.M. (1979), Failure of severe maternal stress or ACTH during pregnancy to affect emotionality of male rat offspring: implications of litter effects for prenatal studies. Develop. Psychobiol., 12 (3), 255-267.

- (55) Christian, J.J. (1960), Adrenocortical and gonadal responses of female mice to increased population density. Proceedings of the Soc. Exptl. Biol. and Med., 104, 330-332.
- (56) Christian, J.J. (1967), Adrenal weight in prairie deer mice (Peromyscus maniculatus bairdii) and white footed mice (Peromyscus leucopus noveboracensis). J. Mamm., 48 (4), 598-605.
- (57) Christian, J.J. (1968), Endocrine-behavioral negative feed-back responses to increased population density. En: Colloques internationaux du centre national de la Recherche Scientifique, editions du centre national de la recherche scientifique, n° 173, Paris.
- (58) Christian, J.J. (1979), Neurobehavioral endocrine regulation of small mammal populations. En: Populations of small mammals under natural conditions. Special publication series Vol. 5, 143-158 , pymaturing laboratory of ecology, University of Pittsburgh, Pennsylvania.
- (59) Cines, B.M. y Winick, M. (1979), Behavioral and physiological effects of early handling and early malnutrition in rats. Develop. Psychobiol., 12 (4), 381-389.
- (60) Coe, C.L., Mendoza, S.P., Smotherman, W.P. y Levine, S. (1978), Mother-infant attachment in the Squirrel monkey: Adrenal response to separation. Behav. Biol., 22, 256-263.

- (61) Coover, G.D., Sutton, B.R., Welle, S.L. y Hart, R.P. (1978), Corticosterone responses, hurdle-jump, acquisition, and the effects of dexamethasone using classical conditioning of fear. *Horm. Behav.*, 11, 279-294.
- (62) Cross, M.S. y La Barba, R.C. (1978), Neonatal stimulation, maternal behavior, and accelerated maturation in BALB/C mice. *Develop. Psychobiol.*, 11 (1), 83-92.
- (63) Crowley, W.R., Feder, H.H. y Morin, L.P. (1976), Role of monoamines in sexual behavior of the female guinea pig. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 4, 67-71.
- (64) Crunelli, V. y Bernasconi, S. (1979), A new device to measure different size movements: studies on d-amphetamine induced locomotion and stereotypy. *J. Pharmacol. Methods*, 2, 43-50.
- (65) Dahlöf, L-C., Hård, E. y Larsson, K. (1977), Influence of maternal stress on offspring sexual behaviour. *Anim. Behav.*, 25, 958-963.
- (66) Dahlöf, L-C., Hård, E. y Larsson, K. (1978), Sexual differentiation of offspring of mothers treated with cortisone during pregnancy. *Physiol. Behav.*, 21 (4), 673-674.
- (67) Dantzer, R. (1981), El stress en los animales de cría intensiva. *Mundo Científico*, 1 (3), 224-255.

- (68) Dark, J.G., Chiodo, L.A., Papich, P.S., Yori, J.G. y Asdourian, D. (1977), Impairment in a T-maze task following unilateral hypothalamic lesions. *Physiol. Behav.*, 19 (3), 365-370.
- (69) Davenport, L.D. (1979), Adrenal modulation of brain size in adult rats. *Behav. Neural Biol.*, 27, 218-221.
- (70) Davis, H., Green, B., Herrmann, T. y Levine, S. (1978), Blockage of pituitary-adrenal activity does not affect conditioned suppression. *Physiol. Behav.*, 20 (4), 423-425.
- (71) Davis, H., Porter, J.W., Livingstone, J., Herrmann, T., MacFadden, L. y Levine, S. (1977), Pituitary-adrenal activity and leverpress shock escape behavior. *Physiol. Psychol.*, 5 (3), 280-284.
- (72) Denenberg, V.H. (1963), Early experience and emotional development. *Sci. Am.*, Junio 1963.
- (73) Denenberg, V.H. (1964), Critical periods, stimulus input and emotional reactivity: a theory of infantile stimulation. En: *Early learning and early experience*, pp. 210-233, Sluckin, W. (ed.) Penguin Book, Harmondsworth, Gran Bretaña.
- (74) Denenberg, V.H. (1981), Hemispheric laterality in animals and the effects of early experience. *Behav. Brain Sci.*, 4 (1), 1-49.

- (75) Denenberg, V.H., Hofmann, M., Garbaniti, J.A., Sherman, G.F., Rosen, G.D. y Yutzey, D.A. (1980), Handling in infancy, taste aversion and brain laterality in rats. Brain Res., 200, 123-133.
- (76) Denenberg, V.H. y Karas, G.G. (1960), Interactive effects of age and duration of infantile experience on adult learning. Psychol. Reports, 7, 313-322.
- (77) Denenberg, V.H. y Morton, J.R.C. (1962), Effects of environmental complexity and social groupings upon modification of emotional behavior. J. Comp. Physiol. Psychol., 55 (2), 242-246.
- (78) Denenberg, V.H., Zeidner, L., Rosen, G.D., Hofmann, M., Garbanati, J.A., Sherman, G.F. y Yutzey, D.A. (1981), Stimulation in infancy facilitates interhemispheric communication in the rabbit. Develop. Brain Res., 1, 165-169.
- (79) Diakow, C. y Dewsbury, D.A. (1978), A comparative description of the mating behaviour of female rodents. Anim. Behav., 26, 1091-1097.
- (80) Dorner, G. (1970), The influence of sex hormones during the hypothalamic differentiation and maturation phases on gonadal function and sexual behaviour during the hypothalamic functional phase. Endokrinologie, 56, 280-291.
- (81) Dorner, G. (1976), Hormones and brain differentiation. Elsevier, Amsterdam-Oxford-New York.



- (82) Dorner, G. (1977), Hormone dependent differentiation, maturation and function of the brain and sexual behavior. *Endokrinologie*, 69 (3), 306-320.
- (83) Dorner, G., Docke, F. y Hinz, G. (1969), Homo- and hiper-sexuality in rats with hypothalamic lesions. *Neuroendocrinol.*, 4, 20-24.
- (84) Dorner, G., Docke, F. y Moustafa, S. (1968), Differential localization of a male and a female hypothalamic mating centre. *J. Reprod. and Fertil.*, 17, 583-586.
- (85) Dorner, G., Hecht, K. y Hinz, G. (1976), Teratopsychogenic effects apparently produced by nonphysiological neurotransmitter concentrations during brain differentiation. *Endokrinologie*, 68, 1-5.
- (86) Drews, D.R. y Wulczyn, F.H. (1975), Measuring dominance in rats. *Psychol. Rec.*, 25, 573-581.
- (87) Dunlap, J.L., Zadina, J.E. y Gougis, G. (1978), Prenatal stress interacts with prepuberal social isolation to reduce male copulatory behavioural. *Physiol. Behav.*, 21, 873-875.
- (88) Dunn, J.D. y Castro, A.J. (1980), Altered but persisting circadian fluctuations in plasma corticosterone levels following medial forebrain bundle ablation. *Neurosci. Letters*, 19, 93-96.
- (89) Eckert, R. y Randall, D. (1983), *Animal Physiology* (2ª ed.) p. 438. W.H. Freeman and Co. San Francisco.

- (90) Eibl-Eibesfeldt, I. (1961), The fighting behaviour of animals. Sci. Am., Diciembre 1961.
- (91) Eibl-Eibesfeldt, I. (1974), Etología. Introducción al estudio comparado del comportamiento. Omega. Barcelona, España.
- (92) Eichelman, B.S. (1971), Effects of subcortical lesions on shock-induced aggression in the rat. J. Comp. Physiol. Psychol., 74 (3), 331-339.
- (93) Eliasson, M. y Meyerson, B. (1981), Development of sociosexual approach behavior in male laboratory rats. J. Comp. Physiol. Psychol., 95 (1), 160-165.
- (94) Estep, D.Q., Kenney, A.M. y Dewsbury, D.A. (1978), Copulatory behavior of roof rats (Rattus rattus). J. Comp. Physiol. Psychol., 92 (2), 322-334.
- (95) Everitt, B.J., Fuxe, K., Hokfelt, T. y Jonsson, G. (1975), Role of monoamines in the control by hormones of sexual receptivity in the female rat. J. Comp. Physiol. Psychol., 89, 556-572.
- (96) Fenske, M., Grospietsch, G. y König, A. (1980), Effects of ether stress on plasma glucocorticosteroid and aldosterone concentration in immature and adult rabbits. Acta Endocrinologica. Advance Abstracts papers. Suppl. 234, vol. 94, pp. 148-149.

- (97) Fenske, M., Voos, H.J., Welp, C., Koetnzer, B., Pich, S. y Holtz, W. (1981), Activation of the pituitary-adrenal system in the pig by stress factors: evidence for a slow and rapid adrenal response. Acta Endocrinologica. Advance Abstracts of paper. Suppl. 240, vol. 96, pp. 63-64.
- (98) File, S.E. (1978), ACTH, but not corticosterone impairs habituation and reduces exploration. Pharmacol. Biochem. Behav., 9 (2), 161-166.
- (99) File, S.E. (1978), The ontogeny of exploration in the rat: habituation and effects of handling. Develop. Psychobiol.. 11 (4), 321-328.
- (100) File, S.E. (1978), Exploration, distraction, and habituation in rats reared in isolation. Develop. Psychobiol., 11 (1), 73-81.
- (101) File, S.E. y Peet, L.A. (1980), The sensibility of the rat corticosterone response to environmental manipulations and to chronic chlordiazepoxide treatment. Physiol. Behav., 25 (5), 753-758.
- (102) Fonberg, E. y Serduchenko, V.M. (1980), Predatory behavior after hypothalamic lesions in cats. Physiol. Behav., 24 (2), 225-230.
- (103) Gallant, S. y Brownie, A.C. (1979), Serum corticosteroid at the high and low points of the circadian rhythm in rats with regenerating adrenals. Life Sci., 24, 1097-1102.

- (104) Ganong, W.F. (1980), Participation of brain monoamines in the regulation of neuroendocrine activity under stress. Catecholamines and stress: Recent Advances. Usdin, Kvetňanský y Kopin (eds.), pp. 115-124.
- (105) Gessa, G.L. y Tagliamonte, A. (1975), Role of brain serotonin and dopamine in male sexual behaviour. En: Sexual behaviour: Pharmacology and Biochemistry. Sandler, M. y Gessa, G.L. (eds.), Raven Press, New York.
- (106) Geyer, L.A. y Barfield, R.J. (1980), Regulation of social contact by the female rat during the postejaculatory interval. Anim. Learn. Behav., 8 (4), 679-685.
- (107) Giammanco, S. y La Guardia, M. (1979), A research on the action of testosterone propionate and of ciproterone acetate on the mouse-killing behaviour of the adult rat. Archiv. Internat. Physiol. Biochim., 87, 949-953.
- (108) Giammanco, S. y La Guardia, M. (1979), The influence of sex of castration in new-born males and of androgen treatment in new-born females on the mouse-killing behaviour of the rat. Archiv. Internat. Physiol. Biochim., 87, 943-947.
- (109) Gill, J.H. y Nielson, H.C. (1978), State-dependent dissociation of food consumption and maze running in rats. Physiol. Psychol., 6 (2), 179-186.
- (110) Gleason, P.E., Michael, S.D. y Christian, J.J. (1979), Effects of gonadal steroids on agonistic behavior of female Peromyscus leucopus. Horm. Behav., 12, 30-39.

- (111) Golub, M.S. (1982), Maze exploration in juvenile rats treated with corticosteroids during development. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 17 (3), 473-479.
- (112) González Fraile, I. (1980), Influencia del "stress" neonatal en la conducta de la rata. Tesis de licenciatura. Fac. de C. Biológicas. Univ. Complutense de Madrid.
- (113) González Fraile, I., Hernández, R., Viveros, P. y Fraile, A. (1981), Manipulación neonatal y agresión en la rata. Resúmenes del II Congreso de la Federación Española de Sociedades de Biología Experimental, pp. 303, Madrid.
- (114) Gorski, R.A. (1976), The possible neural site of hormonal facilitation of sexual behaviour in the female rats. *Psychoneuroendocrinol.*, 1, 371-387.
- (115) Gorski, R.A., Christensen, L.W. y Nance, D.M. (1979), The induction of heterotypical sexual behavior in the rat. *Psychoneuroendocrinol.*, 4, 311-328.
- (116) Grastyán, E. y Buzsáki, G. (1979), The orienting-exploratory response hypothesis of discriminative conditioning. *Acta Neurobiol. Exp.*, 39, 491-501.
- (117) Gray, J.A. (1971), Sex differences in emotional behaviour in mammals including man, *Acta Psychol.*, 35, 29-46.
- (118) Gray, J.A. (1971), The psychology of fear and stress. London, Neidenfeld & Nicolson. New York: Mc Graw-Hill. Trad. española: La psicología del miedo. Guadarrama. Madrid España.

- (119) Gray, J.A. (1975), Elements of a two-process theory of learning, London: Academic Press.
- (120) Gray, J.A. (1979), Emotionality in male and female rodent: A reply to Archer, British J. Psychol., 70, 425-440.
- (121) Gray, J.A. y Lalljee, B. (1974), Sex differences in emotional behaviour in the rat: correlation between open-field defecation and active avoidance, Anim. Behav., 22, 856-861.
- (122) Grota, L.J. (1981), Serotonin regulation of corticoid secretion in infant rats, Develop. Psychobiol., 14 (3), 221-228.
- (123) Guillet, R., Saffran, M. y Michaelson, S. (1980), Pituitary-Adrenal response in neonatal rats, Endocrinol., 106(3), 991-994.
- (124) Guthrie, D.M. (1980), Neuroethology. An introduction, Blackwell Scientific Publications. Oxford (Great Britain).
- (125) Hall, C.S. (1934), Emotional behavior in the rat. I: Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality, J. Comp. Psychol., 18, 385.
- (126) Hassamannová, J., Myscieveček, J. y Romoliniová, A. (1981), Differences in ontogeny of learning in pigmented and albino rats, Aktiv. Ner. Sup. (Praha), 23(1), 11-12.
- (127) Heinemann, E.G., Sage-Day, J. y Brenner, N. (1981), Retroactive interference in discrimination learning, Sci., 214, 1254-1257.

- (128) Heller, K.E. (1979), An attempt to separate the roles of corticosterone and ACTH in the control of post-shock fighting behaviour in male laboratory mice, *Behav. Processes*, 4, 231-238.
- (129) Hennessy, M.B., Heybach, J.P., Vernikos, J. y Levine, S. (1979), Plasma corticosterone concentrations sensitively reflect levels of stimulus intensity in the rat, *Physiol. Behav.*, 22(5), 821-825.
- (130) Hennessy, M.B. y Kaplan, J.N. (1982), Influence of the maternal surrogate on pituitary-adrenal activity and behavior of infant Squirrel monkeys, *Develop. Psychobiol.*, 15 (5), 423-431.
- (131) Hennessy, M.B. y Levine, S. (1977), Effects of various habituation procedures on pituitary-adrenal responsiveness in the mouse, *Physiol. Behav.*, 18 (5), 799-802.
- (132) Hennessy, M.B., Li, J., Lowe, E.L. y Levine, S. (1980), Maternal behavior, pup vocalizations, and pup temperature changes following handling in mice of 2 inbred strains, *Develop. Psychobiol.*, 13 (6), 573-584.
- (133) Hernández, R. (1981), Conducta general y testosteronemia en la rata: un modelo de comportamiento basado en esta relación, Tesis doctoral, Fac. de C. Biológicas, U.C.M.
- (134) Hetta, J. y Meyerson, B.J. (1978), Sexual motivation in the male rat, *Acta Physiol. Scand. Supplm.*, 453.

- (135) Hetta, J. and Meyerson, B.J. (1978), A metodological study of sex-specific orientation and the effects of gonadal hormones, *Acta Physiol. Scand. Supplm.*, 453.
- (136) Hofer, M.A. (1975), Studies on how early maternal separation produces behavioral change in young rats, *Psychosomatic Medicine*, 37 (3), 245-264.
- (137) Holloway, W.R., Dollinger, M.J. y Denenberg, V.H. (1979), Effects of perinatal rearing environments upon survival probability and body weight in the rat, *Behav. Neural. Biol.*, 27, 368-373.
- (138) Honma, S. y Hiroshige, T. (1977), Pubertal manifestation of sex difference in circadian rhythm of corticotrophin-releasing activity in the rat hypothalamus, *Acta Endocrinol.*, 86, 225-234.
- (139) Hutchinson, R.R., Ulrich, R.F. y Azrin, N.H. (1965), Effects of age and related factor on the pain-aggression reaction, *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 59 (3), 365-369.
- (140) Hynan, M.T. y Knutson, J.F. (1976), Target behaviour as a determinat of aggressor's behaviour in shock-induced attack, *Psychological Reports.*, 38, 371-379.
- (141) Isaacson, R.L., Douglas, R.J., Lubar, J.F. y Schmaltz, L. (1971), A primer of physiological psychology, Trad. Esp.: *Introducción a la Psicología Fisiológica*. Ed. Taller de Ediciones J.B., 1974.



- (142) Izquierdo, I. y Elisabetsky, E. (1979), Physiological and pharmacological dissection of the main factors in the acquisition and retention of shuttle behaviour, en:Brain Mechanisms in Memory and Learning: From single neuron to man.,pp. 227-248, Brazier, M.A.B.(ed.),Raven Press,New York.
- (143) Jones, D.G. y Smith, B.J. (1980), Morphological analysis of the hippocampus following differential rearing in environments of varying social and physical complexity, Behav. Neural Biol., 30, 135-147.
- (144) Kant, J.G., Bunnell, B.N., Mougey, E.H., Pennington, L.L. y Meyerhoff, J.L. (1983), Effects of repeated stress on pituitary cyclic AMP, and plasma prolactin, corticosterone and growth hormone in male rats, Pharmacol. Biochem. Behav., 18 (6), 967-971.
- (145) Karli, P. (1956), The norway rat's killing response to the white mouse, Behav., 10, 81-103.
- (146) Karli, P., Vergnes, M., Eclancher, F., Schmitt, P. y Chaurand, J.P. (1972), Role of the amygdala in the control of "mouse-killing" behaviour in the rat, en:The neurobiology of the amygdala. Enfttheriou, B.E. (ed). Plenum Press, New York.
- (147) Katz, H.B. y Davies, C.A. (1983), The separate and combined effects of early undernutrition and environmental complexity at different ages on cerebral measures in rats, Develop. Psychobiol., 16 (1), 47-58.

- (148) Kimble, D.P., Jordan, W.P. y BreMiller, R. (1982), Further evidence for latent learning in hippocampal-lesioned rats, *Physiol. Behav.*, 29 (3), 401-407.
- (149) King, B.M., Levine, S. y Grossman, S.P. (1979), Pituitary-adrenocortical response to shock-induced stress in normal and hypothalamic hyperphagic rats, *Physiol. Behav.*, 22 (4), 753-757.
- (150) Knutson, J.F. y Hynan, M.T. (1973), Predatory aggression and irritable aggression: shock-induced fighting in mouse-killing rats, *Physiol. Behav.*, 11, 113-116.
- (151) Knutson, J.F., Hynan, M.T. y Kane, N.L. (1976), Influence of home-cage lighting conditions on shock-induced fighting, *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 90 (9), 877-888.
- (152) Koolhaas, J.M. (1978), Hypothalamically induced intraspecific aggressive behaviour in the rat, *Exp. Brain Res.*, 32, 365-375.
- (153) Landauer, M.R., Wiese, R.E. y Carr, W.J. (1977), Responses of sexually experienced and naive male rats to cues from receptive vs. nonreceptive females, *Anim. Learn. Behav.*, 5 (4), 398-402.
- (154) Leedy, M.G., Vela, E.A., Popolow, H.B. y Gerall, A.A. (1980), Effect of prepuberal medial preoptic area lesions on male rat sexual behavior, *Physiol. Behav.*, 24 (2), 341-346.

- (155) Lescoat, G. y Feliot, J. (1979), Evolution de la concentration plasmatique en gonadotrophines et en corticostérone au cours de la croissance chez le rat mâle, Annales d'Endocrinol., 40, 121-127.
- (156) Leshner, A.I. (1975), A model of hormones and agonistic behavior, Physiol. Behav., 15 (2), 225-235.
- (157) Leshner, A.I., Korn, S.J., Mixon, J.F., Rosenthal, C. y Besser, A.K. (1980), Effects of corticosterone on submissiveness in mice: Some temporal and theoretical considerations, Physiol. Behav., 24 (2), 283-288.
- (158) Leshner, A.I. y Politch, J.A. (1979), Hormonal control of submissiveness in mice: Irrelevance of the androgens and relevance of the pituitary-adrenal hormones, Physiol. Behav., 22 (3), 531-534.
- (159) Leshner, A.I. y Schwartz, S.M. (1977), Neonatal corticosterone treatment increase submissiveness in adulthood in mice, Physiol. Behav., 19 (1), 163-165.
- (160) Levine, S., Coe, C.L., Smotherman, W.P. y Kaplan, J.N. (1978), Prolonged cortisol elevation in the infant Squirrel monkey after reunion with mother, Physiol. Behav., 20 (1), 7-10.
- (161) Levine, S., Chevalier, J.A. y Korchin, S.J. (1956), The effects of early shock and handling on later avoidance learning, en: Early learning and early experience, pp.202-209, Sluckin, W. (ed.), Penguin Books, Harmondsworth, Great Britain.

- (162) Levine, S. y Mullins, R.F. Jr. (1966), Hormonal influences on brain organization in infant rats, *Sci.*, 152, 1585-1592.
- (163) Levine, S. y Treiman, D.M. (1969), Determination individual differences in the steroid response to stress, en: *Physiol. and Pathol. of Adaptation Mechanism.*, Bajusz. E. (ed.), Pergamon Press., Oxford.
- (164) Levine, S. y Wetzell, A.B. (1963), Infantile experience, strain differences and avoidance learning, *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 56, 879-882.
- (165) Levine, T.E., Bornschein, R.L. y Michaelson, I.A. (1977), Technique for assessing visual discrimination learning in mice, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 7 (6), 567-570.
- (166) Lin, M.T., Ho, L.T. y Vang, W.N. (1983), Effects of anterior pituitary hormones and their releasing hormones on physiological and behavioral functions in rats, *J. Steroid Biochem.*, 19 (1), 433-438.
- (167) Liptrap, R.M. y Raeside, J.I. (1978), A relationship between plasma concentrations of testosterone and corticosteroids during sexual and aggressive behaviour in the boar, *J. Endocrinol.*, 76, 75-85.
- (168) Lumia, A.R., Meisel, R.L. y Sachs, B.D. (1981), Induction of female and male mating patterns in female rats by gonadal steroids: Effects of neonatal or adult olfactory bulbectomy, *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 95 (4), 497-511.

- (169) Lyle, J.G., Edwards, M.J. y Jonson, K.M. (1977), Critical periods and the effects of prenatal heat stress on the learning and brain growth of mature guinea pig, *Biobehav. Rev.*, 1 (1), 1-13.
- (170) MacLusky, N.J. y Naftolin, F. (1981), Sexual differentiation of the central nervous system, *Sci.*, 211 (4488), 1294-1302.
- (171) Madlafousěk, J. y Hlišák, Z. (1976), Sexual behaviour of the female laboratory rat: Inventory patterning and measurement, Psychiatric Research Institute. Prague. Czechoslovakia., pp. 129-174.
- (172) Madlafousěk, J., Hlišák, Z. and Beran, J. (1976), Decline of sexual behaviour in castrated male rats: effects of female precopulatory behaviour, *Horm. Behav.*, 7, 245-252.
- (173) Maikel, R.P. y Martel, R.R. (1983), Brain biogenic amines and pituitary-adrenocortical function in the rat, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 19 (2), 321-325.
- (174) Malick, J.B. (1975), Effects of age and food deprivation on the development of muricidal behaviour in rats, *Physiol. Behav.*, 14 (2), 171-175.
- (175) Maneu, H. y Peričić, D. (1983), Hypothalamic GABA system and plasma corticosterone in ether stressed rats, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 18 (6), 847-850.

- (176) Mann, D.R., Jackson, G.G. y Blank, M.S. (1982), Influence of adrenocorticotropin and adrenalectomy on gonadotropin secretion in immature rats, *Neuroendocrinol.* 34, 20-26.
- (177) Maroni, J.B. y Masur, J. (1975), Effects of pre and post-weaning foot-shock on the later competitive behaviour of rats in a straight runway, *Behav. Biol.*, 14, 209-220.
- (178) Masterpasqua, F., Chapman, R.H. y Lore, R.K. (1976), The effects of prenatal psychological stress on the sexual behavior and reactivity of male rats, *Develop. Psychobiol.*, 9 (5), 403-411.
- (179) Matthies, H. (1979), Biochemical, electrophysiological, and morphological correlates of brightness discrimination in rats, en: *Brain Mechanisms in Memory and Learning: From single neuron to man*, pp. 197-215, Brazier, M.A.B. (ed.), Raven Press, New York.
- (180) McCarty, R. y Gold, P. (1980), Short-term stress, plasma catecholamines and modulation of memory, *Catecholamines and stress: Recent Advances*, Usdin/Kvetňasský/ Kopin ed., pp. 221-226.
- (181) McClintock, M.K. y Adler, N.T. (1978), The role of female during copulation in wild and domestic norway rats (Rattus norvegicus), *Behav. LXVII*, I-2, pp. 67-96.
- (182) McEwen, B.S. (1981), Neural gonadal steroid actions, *Sci.*, 211 (4488), 1303-1311.

- (183) McEwen, B.S., Lieberburg, I., Chaptal, C. y Krey, L.C.  
(1977), Aromatization: Important for sexual differentiation  
of the neonatal rat brain, *Horm. Behav.*, 9, 249-263.
- (184) McEwen, B.S., Lieberburg, I., MacLusky, N. y Plapinger, L.  
(1977), Do estrogen receptors play a role in the sexual  
differentiation of the rat brain, *J. Steroid Biochem.*, 8,  
593-598.
- (185) McGinnis, M.Y. y Gorski, R.A. (1980), Sexual behavior of  
male and female septal lesioned rats, *Physiol. Behav.*, 24  
(3), 569-573.
- (186) McGinnis, M., Nance, D.M. y Gorski, R.A. (1978), Olfactory,  
septal and amygdala lesions alone or in combination: Effects  
on lordosis behavior and emotionality, *Physiol. Behav.*,  
20 (4), 435-440.
- (187) Meaney, M.J. y Stewart, J. (1981), A descriptive study of  
social development in the rat (Rattus norvegicus), *Anim.*  
*Behav.*, 29, 34-35.
- (188) Meaney, M.J., Stewart, J. y Beatty, W.W. (1982), The influence  
of glucocorticoids during the neonatal period on the  
development of play-fighting in norway rat pups, *Horm.*  
*Behav.*, 16, 475-491.
- (189) Meisel, R.L., Lumia, A.R. y Sachs, B.D. (1982), Disruption  
of copulatory behavior of male rats by olfactory bulbecto-  
my at two, but not ten, days of age, *Exptl. Neurol.*, 77,  
612-624.

- (190) Melzack, R. y Scott, T.H. (1957), The effects of early experience on the response to pain, en:Early learning and early experience, pp. 189-201, Sluckin, W. (ed.), Harmondworth, (Great Britain).
- (191) Mendoza, S.P., Smotherman, W.P., Miner, M.T., Kaplan, J. y Levine, S. ((1978), Pituitary-adrenal response to separation in mother and infant Squirrel monkeys, Develop. Psychobiol., 11 (2), 169-175.
- (192) Micco, D.J., McEwen, B. y Shein, W. (1979), Modulation of behavioral inhibition in appetitive extinction following manipulation of adrenal steroids in rats: Implication for involvement of the hippocampus, J. Comp. Physiol. Psychol., 93 (2), 323-329.
- (193) Micco, D.J. y McEwen, B.S. (1980), Glucocorticoids, the hippocampus, and behavior: Interactive relation between task activation and steroid hormone binding specificity, J. Comp. Physiol. Psychol., 94 (4), 624-633.
- (194) Micco, D.J., Meyer, J.S. y McEwen, B. (1980), Effects of corticosterone replacement on the temporal patterning of activity and sleep in adrenalectomized rats, Brain Res., 200, 206-212.
- (195) Miyabo, S., Ooya, E. y Hayashi, S. (1981), Effect of intra-hypothalamic implantation of cortisone acetate on the onset of circadian corticosterone rhythm in neonatal female rats, Neuroendocrinol., 33, 47-51.



- (196) Miyabo, S., Yanagisawa, K.-I., Ooya, E., Hesida, T. y Kishida, S. (1980), Ontogeny of circadian corticosterone rhythm in female rats: Effects of periodic maternal deprivation and food restriction, *Endocrinol.*, 106 (2), 636-642.
- (197) Moberg, G.P. y Wood, V.A. (1979), Neonatal stress in lambs: Behavioral and physiological responses, *Develop. Psychobiol.*, 14 (2), 155-162.
- (198) Morgan, M.J. y Einon, D.F. (1975), Incentive motivation and behavioral inhibition in socially-isolated rats, *Physiol. Behav.*, 15, 405-409.
- (199) Morton, J.R.C., Denenberg, V.H. y Zarrow, M.X. (1962), Modification of sexual development through stimulation in infancy, *Endocrinol.*, 72, 439-442.
- (200) Moyer, K.E. (1968), Kinds of aggression and their physiological basis, *Commun. Behav. Biol.*, 2, 65-67.
- (201) Moyer, K.E. (1971), A preliminary physiological model of aggressive behaviour. The physiology of aggression and defeat, Plenum Press.
- (202) Muñoz Tedo, M.C. (1975), Efecto de las lesiones del cortex límbico frontal en los procesos de aprendizaje, Tesis doctoral, Dpto. Biofísica CSIC, Fac. C. Biológicas, U.C.M.
- (203) Murphy, M.R. (1980), Sexual preferences of male hamsters: Importance of preweaning and adult experience, vaginal secretion, and olfactory or vomeronasal sensation, *Behav. Neural Biol.*, 30, 323-340.

- (204) Mysliveček, J. y Hassmannová, J. (1979), Ontogeny of active avoidance in the rat: Learning and memory, *Develop. Psychobiol.*, 12 (2), 169-186.
- (205) Mysliveček, J. y Hassamannová, J. (1981), Earliest manifestations of memory in the rat ontogeny, *Activ. Ner. Sup.*, (Praha), 23 (1).
- (206) Neter, J. and Wasserman, N. (1974), *Applied linear statistical models*, R.D. Irwin, Inc. Illinois, U.S.A.
- (207) Numan, R., Ward, C. y Clark, J. (1982), Septal lesions and active avoidance performance in rats: effects of differential intrabox cues, *Physiol. Behav.*, 29 (3), 489-493.
- (208) Nyakas, C., Levay, G., Viltsek, J. y Endröczy, E. (1981), Effects of neonatal ACTH<sub>4-10</sub> administration on adult adaptive behavior and brain tyrosine hydroxylase activity, *Develop. Neurosci.*, 4, 225-232.
- (209) Ögren, S.-O. y Fuxe, K. (1977), On the role of brain noradrenaline and the pituitary-adrenal axis in avoidance learning. I. Studies with corticosterone, *Neurosci. Letters*, 5, 291-296.
- (210) Olds, J. (1956), Pleasure centers in the brain, *Sci. Am.*, Octubre 1956.
- (211) Oliverio, A. (1979), Genetic and environmental factors in the ontogeny of learning, en: *Brain mechanisms in memory and learning: From the single neuron to man*, pp. 109-123, Brazier, M.A.B. (ed.), Raven Press, New York.

- (212) Osborne, B., Sivakumaran, T. y Black, A.H. (1979), Effects of fornix lesions on adrenocortical responses to changes in environmental stimulation, *Behav. Neural Biol.*, 25, 227-241.
- (213) Otten, U., Baumann, J.B. y Girard, J. (1980), Stimulation of the pituitary-adrenocortical axis by nerve growth factor, *Acta Endocrinol./Advance Abstracts of Paper. Suppl. 234.*, vol. 94, pg. 138.
- (214) Peters, D.A.V. (1982), Prenatal stress: Effects on brain biogenic amine and plasma corticosterone levels, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 17 (4), 721-725.
- (215) Pfaff, D.W., Diakow, C., Montgomery, M. y Jenkins, F.A. (1978), X-ray cinematographic analysis of lordosis in female rats, *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 92 (5), 937-941.
- (216) Phelps, C.P., Koranyi, L. y Tamasy, V. (1982), Brain catecholamine concentration during the first week of development in rats, *Develop. Neurosci.*, 5, 503-507.
- (217) Plas-Roser, S. y Aron, C. (1977), New data concerning the control by the adrenals of sexual receptivity in the rat, *Physiol. Behav.*, 19, 57-60.
- (218) Plas-Roser, S. y Aron, C. (1981), Stress related effects in the control of sexual receptivity and in the secretion of progesterone by the adrenals in cyclic female rats, *Physiol. Behav.*, 27 (2), 261-264.

- (219) Politch, J.A. y Leshner, A.I. (1977), Relationship between plasma corticosterone levels and levels of aggressiveness in mice, *Physiol. Behav.*, 19 (6), 775-780.
- (220) Popova, N.K. y Koryakina, L.A. (1981), Some genetical aspects on pituitary-adrenal response to stress in mice, *Endocrinol. Exptl.*, 15, 45-54.
- (221) Powers, J.B. (1972), Facilitation of lordosis in ovariectomized rats by intracerebral progesterone implants, *Brain Res.*, 48, 311-325.
- (222) Powers, J.B. y Valenstein, E.S. (1972), Sexual receptivity facilitation by medial preoptic lesions in female rats, *Sci.*, 175, 1003-1005.
- (223) Price, E.O., Balanger, P.L. y Duncan, R.A. (1976), Competitive dominance of wild and domestic norway rats (Rattus norvegicus), *Anim. Behav.*, 24, 589-599.
- (224) Price, E.O. y Huck, U.W. (1976), Open-field behavior of wild and domestic norway rats, *Anim. Learn. Behav.*, 4 (2), 125-130.
- (225) Puciłowski, O. y Kostowski, W. (1981), Effects of stimulation of the raphe nuclei on muricide behavior in rats, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 14, Suppl. 1, 25-28.
- (226) Puciłowski, O. y Kostowski, W. (1983), Aggressive behaviour and the central serotonergic systems, *Behav. Brain Res.*, 9, 33-48.

- (227) Puro, D.G. (1983), Glucocorticoid regulation of synaptic development, *Develop. Brain Res.*, 8, 283-290.
- (228) Rainbow, T.C., McGinnis, M.Y., Davis, P.G. y McEwen, B.S. (1982), Application of anisomycin to the lateral ventromedial nucleus of the hypothalamus inhibits the activation of sexual behavior by estradiol and progesterone, *Brain Res.*, 233, 417-423.
- (229) Rainbow, T.C., Parsons, B. y McEwen, B.S. (1982), Sex differences in rat brain oestrogen and progestin receptors, *Nature*, 300, 648-649.
- (230) Randich, I.M. y Lolordo, V.M. (1979), Pituitary-adrenal influences on the acquisition of excitatory and inhibitory conditioned responses in rats, *Physiol. Psychol.*, 7 (1), 75-83.
- (231) Rodgers, R.J. y Semple, J.M. (1978), Pituitary-adrenocortical axis and shock-induced fighting in rats, *Physiol. Behav.*, 20 (5), 533-537.
- (232) Rosenberg, K.M., Denenberg, V.H., Zarrow, M.X. y Frank, B. (1971), Effects of neonatal castration and testosterone on the rats pup-killing behaviour and activity, *Physiol. Behav.*, 7, 363-368.
- (233) Royce, J.R. (1977), On the construct validity of open-field measures, *Psychological Bull.*, 84, 1098-1106.

- (234) Du Ruisseau, P., Tache, Y., Brazeau, P. y Collu, R. (1978), Pattern of adenohipophyseal hormone changes induced by various stressors in female and male rats, *Neuroendocrinol.*, 27, 257-271.
- (235) Russell, J.W. y Singer, G. (1983), Relations between muricide, circadian rhythm and consummatory behavior, *Physiol. Behav.*, 30 (1), 23-27.
- (236) Santacana, M.P., Alvarez Pelaez, R. y Tejedor, P. (1972), Effects of the lesion of the mamillary bodies on the performance in the open-field, *Physiol. Behav.*, 9(4), 501-504.
- (237) Scallet, A.C., Suomi, S.J. y Bowman, R.E. (1981), Sex differences in adrenocortical response to controlled agonistic encounters in Rhesus monkeys, *Physiol. Behav.*, 26 (3), 385-390.
- (238) Schlatter, J. y Bättig, K. (1979), Differential effects of nicotine and amphetamine on locomotor activity and maze exploration in two rat lines, *Psychopharmacol.*, 64, 155-161.
- (239) Schmajuk, N.A., Segura, E.T. y Rebores, J.C. (1980), Appetitive conditioning and discriminatory learning in toads, *Behav. Neural Biol.*, 28, 392-397.
- (240) Scott, J.P. (1971), Theoretical issues concerning the origin and causes of fighting, en: *Physiology of Aggression and Defeat*. Plenum Press.

- (241) Seay, B. y Harlow, H.F. (1965), Maternal separation in the Rhesus monkey, en: Early handling and early experience, pp. 307-319, Sluckin, W. (ed.), Penguin Book, Harmondsworth, (Great Britain).
- (242) Selye, H. (1946), The general adaptation syndrome and diseases of adaptation, J. of Clinical Endocrinol., 6 (2), 217-230.
- (243) Sembello, W.J. y Gladfelter, W.E. (1974), Effect of hypothalamic lesions on the treadmill performance of rats, Physiol. Behav., 13, 603-607.
- (244) Siegel, B.J. y Moberg, G.P. (1980), The influence of neonatal stress on the physiological and behavioral response of lambs during active-avoidance conditioning, Horm. Behav., 14, 136-145.
- (245) Siek, G. y Ramaley, J.A. (1975), Effects of early handling upon puberty: Correlations with adrenal stress responsiveness, Physiol. Behav., 15, 487-489.
- (246) Slater, J. y Blizard, D.A. (1976), A reevaluation of the relation between estrogen and emotionality in female rats, J. Comp. Physiol. Psychol., 90 (8), 775-764.
- (247) Smith, G., Spear, L. y Spear, W. (1982), Detection of cholinergic mediation of behavior in 7-, 9-, and 12-day old rat pups, Pharmacol. Biochem. Behav., 16 (5), 805-809.

- (248) Smotherman, W.P. (1982), In utero chemosensory experience alters taste preferences and corticosterone responsiveness, *Behav. Neural Biol.*, 36, 61-68.
- (249) Smotherman, W.P., Wiener, S.G., Mendoza, S.P. y Levine, S. (1977), Maternal pituitary-adrenal responsiveness as a function of differential treatment of rat pups, *Develop. Psychobiol.*, 10 (2), 113-122.
- (250) Snedecor, G.W. and Cochran, W.G. (1967), *Statistical methods*, The Iowa State University, Press. Ames. Iowa, U.S.A., 6ª edición 1967, (1ª ed. 1937).
- (251) Södersten, P. (1975), Receptive behavior in developing female rats, *Horm. Behav.*, 6, 307-317.
- (252) Sokal, R.R. and Rohlf, F.J. (1969), *Biometry, The principles and practice of statistics in biological research*, Ed.W.H. Freeman and Co.
- (253) Sotsky, S.M., Lake, C.R. y Goodwin, F.K. (1981), Adrenocortical function and plasma norepinephrine in normal human subjects, *Biol. Psychiatry*, 16 (7), 643-651.
- (254) Soubrie, P. (1971), Open-field chez le rat: Inter-relations entre locomotion, exploration et émotivité, *J. Pharmacol.*, 2 (4), 457-472.
- (255) Soulairac, A. y Soulairac, M.-L. (1978), Relationship between the nervous and endocrine regulation of sexual behavior in male rats, *Psychoneuroendocrinol.*, 3, 17-29.



- (256) Stein, C.K. y Labarba, R.C. (1977), Neonatal stimulation and accelerated maturation in BALB/C mice, *Develop. Psychol.*, 13 (4), 423-424.
- (257) Stewart, J., Skvarenina, A. y Pottier, J. (1975), Effects of neonatal androgens on open-field behavior and maze learning in the prepubescent and adult rat, *Physiol. Behav.*, 14 (3), 291-295.
- (258) Swanson, H.H. y Crosley, D.A. (1971), Sexual behaviour in the golden hamster and its modification by neonatal administration of testosterone propionate, en: *Hormones and Development*, Hamburgh, M. y Borrington, E.J. (eds.), Appleton-Century-Crofts, New York.
- (259) Syme, L.A. (1975), Influence of age and sex on the behaviour of rats deprived of the rearing response, *Develop. Psychobiol.*, 8 (1), 35-39.
- (260) Takahashi, L.K. y Lore, R.K. (1983), Play fighting and the development of agonistic behavior in male and female rats, *Aggress. Behav.*, 9, 217-227.
- (261) Tapp, W.N., Mittler, J.C. y Natelson, B.H. (1981), Effects of naloxone on corticosterone response to stress, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 14 (5), 749-751.
- (262) Tarpy, R.M. (1930), *Principios basicos del aprendizaje*, Debate. Madrid-España.

- (263) Taylor, G.T. (1980), Fighting in juvenile rats and the ontogeny of agonistic behavior, J. Comp. Physiol. Psychol., 94 (5), 953-961.
- (264) Telegdy, G., Fekete, M. y Varszegi, M. (1980), Effects of repeated stress on brain monoamines and plasma corticosterone level, Catecholamines and stress: Recent Advances Usdin/Kvetňanský/Kopin ed. pp. 85-90.
- (265) Telegdy, G. y Kovács, G.L. (1979), Role of monoamines in mediating the action of hormones on learning and memory, en: Brain Mechanisms in Memory and Learning: From single neuron to man, pp. 249-268, Brazier, M.A.B. (ed.), Raven Press., New York.
- (266) Thinus-Blanc, C. (1982), Selection of relevant cues in volume discrimination by golden hamsters reared in different environments, Canad. J. Psychol., 36 (3), 520-526.
- (267) Thomas, D.A., McIntosh, T.-K. y Barfield, R.J. (1980), Influence of androgen in the neonatal period on ejaculatory and postejaculatory behaviour in the rat, Horm. Behav., 14, 153-162.
- (268) Thompson, N.R. y Heron, W. (1954), The effects of restricting early experience on the problem-solving capacity of dogs, en: Early learning and early experience, pp. 171-188, Sluckin, W. (ed.), Harmondsworth, (Great Britain).

- (269) Thor, D.H., Ghiselli, W.B. y Ward, T.B. (1974), Infantile handling and sex differences in shock-elicited aggressive responding of hooded rats, *Develop. Psychobiol.*, 7 (3), 273-279.
- (270) Turner, B., Katz, R. y Carroll, B. (1979), Neonatal corticosteroid permanently alters brain activity of epinephrine-synthesizing enzyme in stressed rats, *Brain Res.*, 166, 426-430.
- (271) Ulrich, R.E. y Azrin, N.H. (1962), Reflexive fighting in response to aversive stimulation, *J. Exp. Anal. Behav.*, 5, 511-520.
- (272) Ulrich, R.E., Wolff, P.C. y Azrin, N.H. (1964), Shock as an elicitor of intra-and inter-species fighting behavior, *Anim. Behav.*, 12, 14-15.
- (273) Ursin, H. (1979), Aggression and the brain : Reflex chains or network ?, *Behav. Brain Sci.*, 2, 227.
- (274) Uster, H. J., Bättig, K. y Nägeli, H.H. (1977), Exploratory behavior of rats in mazes of different area and structural complexity, *Activ. Nerv. Sup. (Praha)*, 19 (3), pp. 237-238.
- (275) Vale, W. (1982), Corticotropin Releasing Factor, *Rec. Prog. H. Res.*, 39, 245-270.
- (276) Valle, F.P. y Bols, R.J. (1976), Age factors in sex differences in open-field activity of rats, *Anim. Learn. Behav.*, 4 (4), 457-460.

- (277) Valzelli, L. (1983), Psicobiología de la agresión y la violencia, Alhambra, Madrid-España.
- (278) Valzelli, L., Garattini, S., Bernasconi, S. y Sala, A. (1981), Neurochemical correlates of muricidal behavior in rats, *Neurophysiol.*, 7, 172-178.
- (279) Vergnes, M. (1976), Controle amigdalien de comportements d'agression chez le rat, *Physiol. Behav.*, 17, 439-444.
- (280) Vergnes, M. y Kempf, E. (1982), Effect of hypothalamic injections of 5,7 dihydroxytryptamine on elicitation of mouse-killing in rats, *Behav. Brain Res.*, 5, 387-397.
- (281) Viveros, P. (1980), Influencia de la densidad de población sobre la actividad espontánea de la rata. Algunas consideraciones farmacológicas, Tesis de Licenciatura. Fac. de C. Biológicas. U.C.M.
- (282) Ward, I.L. (1969), Differential effect of pre- and post-natal androgen on the sexual behavior of intact and spayed female rats, *Horm. Behav.*, 1, 25-36.
- (283) Ward, I.L. (1983), Maternal environment and central neurotransmitters in the early organization of the gonadal axis, *Monogr. Neural Sci.*, 9, 169-175.
- (284) Weinberg, J. y Levine, S. (1977), Early handling influences on behavioral and physiological responses during active avoidance, *Develop. Psychobiol.*, 10 (2), 161-169.

- (285) Whatson, T.S., Smart, J.L. y Doobing, J. (1975), Dominance relationships among previously undernourished and well fed male rats, *Physiol. Behav.*, 14, 425-429.
- (286) Whelton, J.P. y O'Boyle, M. (1977), Early experience and the development of predatory and intraspecific aggression in mice, *Anim. Learn. Behav.*, 5 (3), 291-296.
- (287) de Wied, D. (1976), Pituitary adrenal system hormones and behaviour, Symposium on developments in endocrinology, Organon International, Oss, The Netherlands, October 1976, pp. 9-18.
- (288) de Wied, D. (1980), Hormonal influences on motivation, learning, memory, and psychosis, Cap. 21, pp. 194-204, en: *Neuroendocrinology*, Krieger, O. y Hughes, J. (eds.), Sinauer Associates, U.S.A.
- (289) de Wied, D. y Bohus, B. (1979), Modulation of memory processes by neuropeptides of hypothalamic-neurohypophyseal origin, en: *Brain Mechanisms in Memory and Learning: From the single neuron to man*, pp.139-149, Brazier, M.A.B. (ed.), Raven Press, New York.
- (290) Wilcock, J. y Fulker, D.W. (1973), Avoidance learning in rats: genetic evidence for two distinct behavioral processes in the shuttle box, *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 82, 247-253.
- (291) Wilke, D.L., Tseu, S.R., Rhees, R.W. y Fleming, D.E. (1982), Effects of environmental stress or ACTH treatment during pregnancy on maternal and fetal plasma androstenedione in the rat, *Horm. Behav.*, 16, 293-303.

- (292) Wilson, J. D., George, F. W. y Griffin, J.E. (1981), The hormonal control of sexual development, *Sci.*, 211 (4488), 1278-1284.
- (293) Wilson, R.C., Vacek, T., Lanier, D.L. y Dewsbury, D.A. (1976) Open-field behavior in muriod rodents, *Behav. Biol.*, 17, 495-506.
- (294) Yamazaki, J. y Takahashi, K. (1983), Effects of change of mothers and lighting conditions on the development of the circadian adrenocortical rhythm in blinded rat pups. *Psychoneuroendocrinol.*, 8 (2), 237-244.
- (295) Ydstebø, R. y Södersten, P. (1977), Induction of sexual receptivity in ovariectomized female rats by subcutaneous implants of estradiol -17 $\beta$ , *Horm. Behav.*, 9 (2), 130-140.
- (296) Yoburn, B.C., Glusman, M., Potegal, M. y Skaredoff, L. (1981), Facilitation of muricide in rats by cholinergic stimulation of the lateral hypothalamus, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 15 (5), 747-753.
- (297) Yoneda, Y., Kanmori, K., Ida, S. y Kuriyama, K. (1983), Stress-induced alterations in metabolism of  $\gamma$ -aminobutyric acid in rat brain, *J. Neurochem.*, 40 (2), 350-356.
- (298) Yoshimura, H. y Veki, S. (1981), Mouse-killing and hyperemotionality in rats induced by three different kinds of experimental manipulations: A comparative study, *Physiol. Psychol.*, 9 (3), 269-275.
- (299) Zook, J.M. and Adams, D.B. (1975), Comparative fighting in the rat, *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 88 (1), 418-423.